



**Universidad Autónoma de Madrid  
Facultad de Ciencias**

**Departamento de Química Inorgánica**

**Tesis doctoral**

**Síntesis, Actividad Catalítica y Evaluación  
Biológica de Nuevos Compuestos de Pt(II) y Pt(IV)**

**Virginia del Solar Fernández**

**Madrid, 2012**



La presente Tesis Doctoral ha sido realizada en el Departamento de Química Inorgánica de la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Madrid bajo la dirección de la Prof. Dr. Camen Navarro Ranninger y del Dr. José Julián Alemán Lara. La financiación de este trabajo ha provenido del Ministerio de Educación y Ciencia (BES-2008-008466, SAF2006-03296) y de una beca FPI del Ministerio de Ciencia e Innovación (Septiembre 2008-Agosto 2012).





## Abreviaturas y acrónimos

En esta memoria se han empleado las abreviatura y acrónimos recomendadas en “Guidelines for authors” (The Journal of Organic Chemistry – Standard Abbreviations and Acronyms). También se han empleado las indicadas a continuación:

4',6-Diamidino-2-fenilindol	DAPI
1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octano	DABCO
5-Fluorouracilo	5-FU
Ácido araquidónico	AA
Ácido desoxirribonucleico	ADN
Base de Lewis	BL
Cisplatino	<i>cis</i> -DDP o CDDP
Cromatografía en capa fina	CCF
Dimetilamina	dma
Dimetilformamida	DMF
Dimetilsulfóxido	DMSO
Electrospray	ESI
Equivalente(s)	equiv.
Glutación	GSH
Grupo atractor de electrones	GAE
Isopropilamina	mipa
Metilamina	ma
p-Tosil	Tos
Relación diastereomérica	r.d.
Relación enantiomérica	r.e.
Rendimiento	Rdto
Resonancia magnética nuclear	RMN
Temperatura ambiente	t.a.
Tetrahidrofurano	THF
Trietilamina	TEA

## Abbreviations and acronyms

4',6-Diamidino-2-phenylindole	DAPI
1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octane	DABCO
50% Growth inhibition	GI <sub>50</sub>
50% Inhibitory concentration	IC <sub>50</sub>
Deoxiribonucleic acid	DNA
Electron withdrawing groups	EWG
European Medicines Evaluation Agency	EMA
Food and Drug Administration	FDA
Guanosine 5'-monophosphate	GMP
Heteronuclear single quantum coherence	HSQC
High-mobility group box 1	HMGB1
Lewis base	LB
Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	NADPH
Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy	NOESY
Nucleotide Excision Repair	NER
Structure-activity relationship(s)	SAR
Trisilyl propionate	TSP

# ÍNDICE



<b>ÍNDICE .....</b>	<b>7</b>
<b>CAPÍTULO 1 Introducción y antecedentes .....</b>	<b>13</b>
1.1. Breve introducción a la Química Bioinorgánica .....	15
1.2. Cáncer y los fármacos empleados en su tratamiento .....	16
1.3. Cisplatino y derivados. Su uso como antineoplásicos .....	21
1.3.1. Mecanismo de acción del cisplatino .....	23
1.3.2. Acumulación de cisplatino intracelular .....	24
1.3.3. Activación del cisplatino mediante la formación de acuospecies .....	25
1.3.4. Aductos responsables de la apoptosis .....	26
1.4. Complejos de Pt(IV) con geometría <i>cis</i> .....	27
1.5. Compuestos <i>trans</i> -Pt(II) con estructura “no convencional” .....	30
1.5.1. Complejos <i>trans</i> -[PtCl <sub>2</sub> L <sub>2</sub> ] donde L son aminas aromáticas planas .....	30
1.5.2. Complejos <i>trans</i> -[PtCl <sub>2</sub> L <sub>2</sub> ] donde L son iminoéteres .....	31
1.5.3. Complejos <i>trans</i> -[PtCl <sub>2</sub> L <sub>2</sub> ] donde L son aminas alifáticas .....	32
1.6. Compuestos de Pt(IV) con geometría <i>trans</i> .....	34
1.7. Objetivos y planteamiento del trabajo .....	37
1.7.1. Complejos antitumorales como catalizadores en medio acuoso (Capítulo 2) .....	37
1.7.2. Estudios mecanísticos de los complejos antitumorales como catalizadores en medio acuoso (Capítulo 3) .....	38
1.7.3. Aplicación sintética de los complejos de platino como catalizadores en reacciones tipo tandem (Capítulo 4) .....	38
1.7.4. Síntesis y evaluación biológica de nuevos complejos <i>trans</i> de platino(II) con ligandos sulfonamida (Capítulo 5) .....	39
1.7.5. Síntesis y determinación de la citotoxicidad de nuevos complejos de platino(IV) con grupos tosilcarbamato (Capítulo 6) .....	39
1.8. Bibliografía .....	40
<b>CAPÍTULO 2 Complejos Antitumorales como Catalizadores en Medio Acuoso .....</b>	<b>47</b>
2.1. Objetivos .....	49
2.2. Antecedentes: Catálisis metálica en reacciones de ciclación .....	52
2.3. Optimización y alcance de la reacción .....	55
2.3.1. Optimización de la reacción modelo .....	55
2.3.2. Estudios con distintos disolventes orgánicos y acuosos a distintos pH .....	57
2.3.3. Alcance de la reacción .....	59
2.3.4. Isomerización de dobles enlaces de ácidos grasos .....	61
2.4. Conclusiones .....	62
2.5. Parte experimental .....	63
2.5.1. Materiales e instrumentación .....	63
2.5.2. Síntesis de materiales de partida .....	63
2.5.2.1. Procedimiento general para la alquilación de malonatos de alquilo .....	64
2.5.2.2. Procedimiento general para la monohidrólisis de los malonatos sustituidos .....	64

2.5.2.3. Procedimiento general para la obtención de <i>cis</i> -[Pt(II)Cl <sub>2</sub> L <sub>2</sub> ] simétricos ( <b>1b-d</b> y <b>1f</b> )....	67
2.5.2.4. Procedimiento general para la obtención de <i>cis</i> -[Pt(II)Cl <sub>2</sub> LL'] asimétricos ( <b>1e</b> ).....	67
2.5.2.5. Procedimiento general para la obtención de <i>trans</i> -[Pt(II)Cl <sub>2</sub> LL'] ( <b>1a</b> y <b>1g-j</b> ).....	68
2.5.2.6. Procedimiento general para la obtención de <i>cis</i> y <i>trans</i> -[Pt(IV)Cl <sub>2</sub> (OH) <sub>2</sub> LL'] ( <b>1k-o</b> )...	68
2.5.3. Estudios cinéticos de la reacción de ciclación .....	69
2.5.4. Procedimiento general para la ciclación de alquil-ácidos en medio acuoso .....	69
<b>2.6. Bibliografía .....</b>	<b>78</b>
 <b>CAPÍTULO 3 Estudios Mecanísticos de los Complejos Antitumorales como Catalizadores en Medio Acuoso.....</b>	<b>81</b>
<b>3.1. Objetivos.....</b>	<b>83</b>
<b>3.2. Estudios previos del mecanismo de los complejos antitumorales de platino empleando la técnica [<sup>1</sup>H, <sup>15</sup>N] HSQC.....</b>	<b>83</b>
<b>3.3. Estudio de las distintas variables en las reacciones de ciclación de los complejos de platino .....</b>	<b>85</b>
3.3.1. Influencia del tiempo .....	85
3.3.2. Efecto de la concentración y la agitación .....	88
3.3.3. Influencia del agua.....	90
3.3.4. Presencia de electrolito e iones biológicos.....	91
3.3.5. Estudios de RMN .....	92
<b>3.4. Modificación de biomoléculas por los complejos de platino .....</b>	<b>94</b>
<b>3.5. Conclusiones .....</b>	<b>96</b>
<b>3.6. Parte experimental .....</b>	<b>97</b>
3.6.1. Materiales e instrumentación .....	97
3.6.2. Síntesis de materiales de partida .....	97
3.6.3. Estudios cinéticos.....	97
3.6.4. Procedimiento general para la ciclación de alquil-ácidos.....	97
3.6.5. Procedimiento general para la obtención de oxoácidos.....	98
3.6.6. Procedimiento general para la obtención de oxoácidos deuterados.....	99
3.6.7. Procedimiento general para la obtención de cetoalcoholes .....	100
<b>3.7. Bibliografía .....</b>	<b>103</b>
 <b>CAPÍTULO 4 Aplicación Sintética de los Complejos de Platino como Catalizadores..</b>	<b>105</b>
<b>4.1. Objetivo e introducción .....</b>	<b>107</b>
<b>4.2. Optimización y alcance de las reacciones <i>tándem</i> .....</b>	<b>108</b>
4.2.1. Optimización de las condiciones de reacción.....	108
4.2.2. Alcance de la reacción .....	110
<b>4.3. Proceso catalítico <i>tándem</i> iminio-platino y ciclación vía enamina.....</b>	<b>112</b>
<b>4.4. Conclusiones .....</b>	<b>115</b>

<b>4.5. Parte experimental</b>	<b>116</b>
4.5.1. <i>Materiales e instrumentación</i>	116
4.5.2. <i>Síntesis de materiales de partida</i>	116
4.5.2.1. <i>Procedimiento general para la monohidrólisis de los malonatos sustituidos</i>	117
4.5.3. <i>Procedimiento general para la reacción de adición de Michael</i>	118
4.5.4. <i>Procedimiento general para la síntesis de los diésteres 30a-c</i>	126
<b>4.6. Bibliografía</b>	<b>129</b>
 <b>CAPÍTULO 5 <i>Síntesis y Evaluación Biológica de Nuevos Complejos Trans de Platino(II) con Ligandos Sulfonamida</i></b>	 <b>131</b>
<b>5.1. Objetivos y antecedentes</b>	<b>133</b>
<b>5.2. Síntesis de complejos trans de platino con un ligando sulfonamida</b>	<b>134</b>
<b>5.3. Evaluación citotóxica</b>	<b>139</b>
<b>5.4. Experimentos de interacción con la GMP</b>	<b>144</b>
<b>5.5. Ensayos de fluorescencia</b>	<b>146</b>
<b>5.6. Conclusiones</b>	<b>147</b>
<b>5.7. Parte experimental</b>	<b>149</b>
5.7.1. <i>Materiales e instrumentación</i>	149
5.7.2. <i>Estudios cinéticos</i>	149
5.7.3. <i>Ensayos de citotoxicidad</i>	149
5.7.4. <i>Cultivos celulares</i>	150
5.7.5. <i>Ensayos de fluorescencia</i>	150
5.7.6. <i>Síntesis de materiales de partida</i>	150
5.7.6.1. <i>Procedimiento general para la síntesis de mono-N-sulfonamidas</i>	151
5.7.7. <i>Procedimiento para la síntesis de los complejos de platino(II) 36b, 36d, 36f y 36i</i>	154
5.7.8. <i>Procedimiento para la síntesis de los complejos de platino(II) 36b, 36e y 36g</i>	157
<b>5.8. Bibliografía</b>	<b>161</b>
 <b>CAPÍTULO 6 <i>Obtención y Ensayos Biológicos de Nuevos Complejos Tosilcarbamato de Platino(IV)</i></b>	 <b>163</b>
<b>6.1. Objetivos</b>	<b>165</b>
<b>6.2. Antecedentes: derivatización de los grupos hidroxilo en los complejos de platino(IV)</b>	<b>165</b>
<b>6.3. Síntesis de complejos cis y trans de platino(IV) con grupos tosilcarbamato</b>	<b>166</b>
6.3.1. <i>Estudios de la reducción de los complejos de Pt(IV) a Pt(II) por ascorbato sódico</i>	167
6.3.2. <i>Evaluación citotóxica de los complejos 40a-g</i>	169
6.3.3. <i>Ensayos de fotorreducción con el compuesto 40a</i>	172
<b>6.4. Conclusiones</b>	<b>176</b>
<b>6.5. Parte experimental</b>	<b>177</b>
6.5.1. <i>Materiales e instrumentación</i>	177
6.5.2. <i>Estudios de reducción por cantidades crecientes de ascorbato sódico</i>	177

---

6.5.3. Ensayos de citotoxicidad .....	177
6.5.4. Estudios de fotorreducción en presencia de reductor .....	178
6.5.5. Estudios de fotorreducción en ausencia de reductor .....	178
6.5.6. Síntesis de materiales de partida .....	178
6.5.7. Procedimiento general para la síntesis de complejos de platino(IV) con sustituyentes carbamato en las posiciones apicales .....	178
<b>6.5. Bibliografía .....</b>	<b>183</b>
<b>ANEXO I      Summary, conclusions and publications .....</b>	<b>185</b>
<b>A.1. Summary, objectives and conclusions .....</b>	<b>187</b>
A.1.1. Antitumoral platinum complexes as catalysts in aqueous media (Chapter 2) .....	189
A.1.2. Mechanistic studies of antitumor platinum complexes as catalysts (Chapter 3) .....	189
A.1.3. Synthetic application of platinum complexes as catalysts (Chapter 4) .....	190
A.1.4. Synthesis and biological evaluation of novel trans-platinum(II) complexes with sulfonamide ligands (Chapter 5) .....	190
A.1.5. Synthesis and cytotoxicity assays of new platinum(IV) complexes with sulfonylcarbamates moieties (Chapter 6) .....	191
<b>A.2. Publications .....</b>	<b>193</b>
<b>A.3. References .....</b>	<b>215</b>



# **CAPÍTULO 1**

## *Introducción y antecedentes*



### 1.1. Breve introducción a la Química Bioinorgánica

Los fármacos se definen como aquellas sustancias químicas utilizadas para la prevención, diagnóstico, tratamiento o cura de enfermedades, o para mejorar las funciones corporales o mentales. Existen distintas clasificaciones, aunque nosotros atenderemos a la naturaleza metálica o no metálica de los medicamentos. En el pasado un gran número de fármacos comerciales estaban basados en la química del carbono y solamente algunos contenían metales, cuyas aplicaciones se encontraban reducidas al campo de los trastornos y patologías mentales.<sup>1</sup> Mientras que los fármacos de naturaleza orgánica se fueron desarrollando para obtener un mejor beneficio, tanto en su coste, como en su modo de acción<sup>2</sup>, los que contenían metales lo hicieron más lentamente porque primó más el estudio de sus propiedades físico-químicas que el de sus acciones biológicas. Sin embargo, esta tendencia cambió a raíz del descubrimiento de la actividad antineoplásica del cisplatino (nombrado, también, *cis*-DDP o CDDP).<sup>3</sup> El éxito de este compuesto ha provocado que tanto la química médica como la industria farmacéutica se interesaran por los complejos inorgánicos como fármacos.

La Química Bioinorgánica ha surgido como puente entre la química inorgánica y la biología, centrando su estudio en la función de los elementos inorgánicos en los sistemas biológicos, incluyendo el transporte y la especiación de los compuestos metálicos. Además, trata de comprender el papel que juegan los centros metálicos en las metalobiomoléculas (por ejemplo, en las enzimas), así como, la introducción de los metales en los sistemas biológicos como fármacos o sondas de estructuras y función. Las especies estudiadas en esta área pueden comprender tanto iones metálicos (como el catión sodio, Na<sup>+</sup>) como compuestos de coordinación (como cisplatino) o moléculas inorgánicas tales como CO, NO, O<sub>3</sub>. En resumen, se podría decir que las aplicaciones más importantes de la Química Bioinorgánica en medicina son las siguientes:

- Aportación de elementos esenciales: los elementos químicos esenciales se definen como aquellos necesarios para la vida. Cada elemento tiene un rango óptimo de concentraciones dentro de los cuales el organismo, en esas condiciones, funciona adecuadamente; dependiendo del elemento este rango puede ser más o menos amplio. El organismo deja de funcionar adecuadamente cuando presenta tanto por defecto como por exceso uno de estos elementos, cuya aportación, además, no puede ser sustituida por la de otro elemento.
- Terapia de quelación: consiste en la administración intravenosa de agentes quelantes como el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), el ácido 2,3-dimercaptosuccínico (DMSA) o el ácido lipoico, principalmente para el

tratamiento de diferentes enfermedades que tienen como causa principal la acumulación de calcio en las paredes arteriales, o las intoxicaciones por diversos metales pesados, como el plomo o el mercurio.<sup>4</sup>

- Radiofármacos: un radiofármaco es toda sustancia química de naturaleza orgánica o inorgánica que contiene dentro de su estructura átomos radiactivos, los cuales se desintegran espontáneamente con emisión de fotones o partículas nucleares, y se utilizan con fines de diagnóstico, seguimiento y/o terapia, sin producir respuesta fisiológica en el paciente.<sup>5</sup> Las aplicaciones de los radiofármacos en medicina nuclear se pueden clasificar en cuatro categorías: estudios de visualización de órganos, estudios dinámicos, estudios metabólicos y terapéuticos. La razón de la utilización de los radiofármacos para estas actividades estriba en sus propiedades características: su sensibilidad y selectividad, así como por ejemplo la posibilidad que ofrecen de “visualizar” los órganos, como por ejemplo el Cardiolite®.<sup>6</sup>

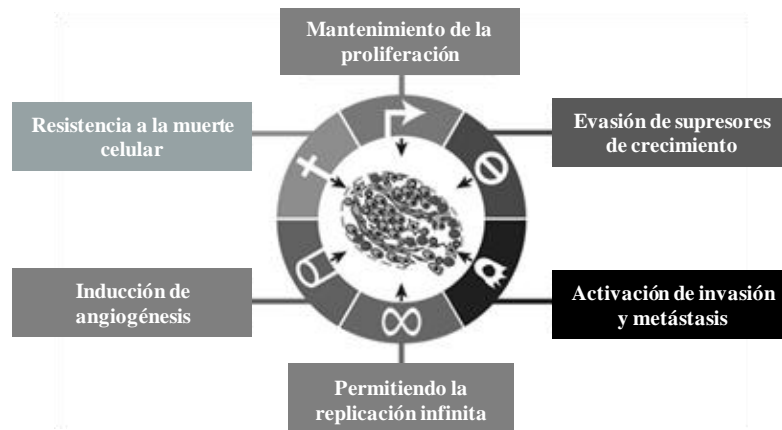
- Agentes terapéuticos: son fármacos basados en metales que se emplean para mitigar o curar enfermedades, como el citado cisplatino, la auranofina<sup>7</sup> (antirreumático) o el yoduro de sodio I<sup>131</sup> (se emplea para tratar el hipertiroidismo y el carcinoma de tiroides).<sup>8</sup>

- Metalómica y metaloproteómica: la metalómica fue definida por Szpunar<sup>9</sup> como el análisis exhaustivo de la totalidad de un metal y sus especies dentro de una célula o tipo de tejido. La metaloproteómica se centra en el estudio de la distribución, composición y caracterización (estructural y funcional) de las metaloproteínas.<sup>10</sup>

## **1.2. Cáncer y los fármacos empleados en su tratamiento**

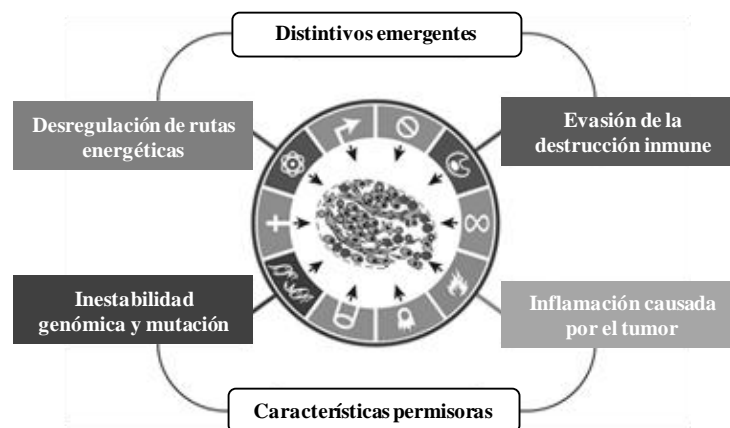
El cáncer es la segunda causa de mortalidad en los países desarrollados, después de las enfermedades cardiovasculares. Según las cifras de incidencia del cáncer en España presentadas por la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM),<sup>11</sup> los hombres padecen, sobre todo, cáncer de próstata, pulmón y colon, mientras que en las mujeres los más frecuentes son el cáncer de mama, tumores ginecológicos (útero, ovario, trompas de Falopio y cuello de útero) y, finalmente, colorrectal. Como dato positivo se puede decir que cada año mueren menos personas a causa del cáncer, debido sobre todo a los avances tanto en diagnóstico como en cirugía, o a la introducción de nuevos fármacos específicos,<sup>12</sup> propiciados por los estudios que se han hecho, tanto de las rutas metabólicas, como de los receptores que se expresan en sus membranas plasmáticas, las proteínas involucradas en el ciclo celular, etc...

El cáncer tiene lugar al producirse una acumulación de mutaciones en el ADN, las cuales generan una o más proteínas funcionalmente aberrantes, que participarán en una cascada de procesos celulares dirigidos, principalmente, al crecimiento desmesurado y a la proliferación evitando, al mismo tiempo, la apoptosis. En la figura 1 está representado el esquema propuesto por Hannahan y Weinberg en el año 2000, donde se describen aquellos procesos que favorecen la aparición del cáncer.<sup>13</sup> Una célula normal puede



**Figura 1**

tornarse tumoral cuando se mantienen las señales de proliferación celular y la replicación del ADN se prolonga en el tiempo, evadiendo las señales de muerte celular y de supresión del crecimiento. Simultáneamente a estos procesos, se induce angiogénesis provocando la invasión de tejidos contiguos e, incluso, metastatizando en otras partes del cuerpo.



**Figura 2**

En 2011, Hannahan y Weinberg ampliaron el gráfico anterior incluyendo cuatro procesos adicionales (figura 2).<sup>14</sup> Para que la formación de células cancerígenas se produzca, además de las señales explicadas anteriormente, deben surgir elementos que, sobre todo, permitan la desregulación de las rutas energéticas de la célula, además, de ayudar a que la célula evada su destrucción vía sistema inmune. A su vez, la presencia de neoplasias se ve fomentada por la inestabilidad genómica y la aparición de mutaciones, así como por la manifestación de procesos inflamatorios.

Debido a la importancia de mantener una homeostasis celular y de evitar que la célula se convierta en otra aberrante, podemos encontrar una división clara de los genes, clasificándose éstos en:

- a) Anti-oncogenes<sup>15</sup> o genes supresores de tumores: las proteínas codificadas por estos genes se encargan de la secuencia normal de acontecimientos, manteniendo la homeostasis celular. Una vez que se produce un daño se activan las vías de reparación y, si el ADN no puede ser reparado, entonces la célula activa un proceso de suicidio celular programado o apoptosis, que elimina la célula dañada y de esta forma evita que ésta transmita los errores genéticos a su descendencia. Cuando estas proteínas no son funcionales o están ausentes, la célula pierde la protección de estos procesos, lo cual conduce a la aparición y desarrollo de tumores malignos.
- b) Proto-oncogenes:<sup>16</sup> son los genes implicados en los procesos normales de crecimiento y diferenciación celular, siendo las proteínas codificadas por dichos genes imprescindibles para la regulación del ciclo celular. Determinados cambios estructurales y/o funcionales en los proto-oncogenes, contribuyen a la codificación de una proteína anormal o a una activación continuada del producto proteico del proto-oncogén. Estos cambios contribuyen a la malignización celular al favorecer el crecimiento descontrolado y la invasividad tumoral.

A pesar de que las bases de la enfermedad son las mismas, no todas las formas de cáncer se desarrollan de la misma manera. Por ejemplo, el cáncer de pulmón tiene un progreso muy lento, mostrándose la enfermedad 10 o 20 años después de la aparición de mutaciones en el ADN.<sup>17</sup> Por lo tanto, un tratamiento contra el cáncer debe tener en cuenta el tipo de neoplasia, su localización, el estado de extensión del mismo y el momento de la diagnosis. Los tipos de terapias más importantes son:

- Radioterapia: tratamiento a través de iones radioactivos. Destruye las células o el material genético en el área tratada, imposibilitando el crecimiento celular.

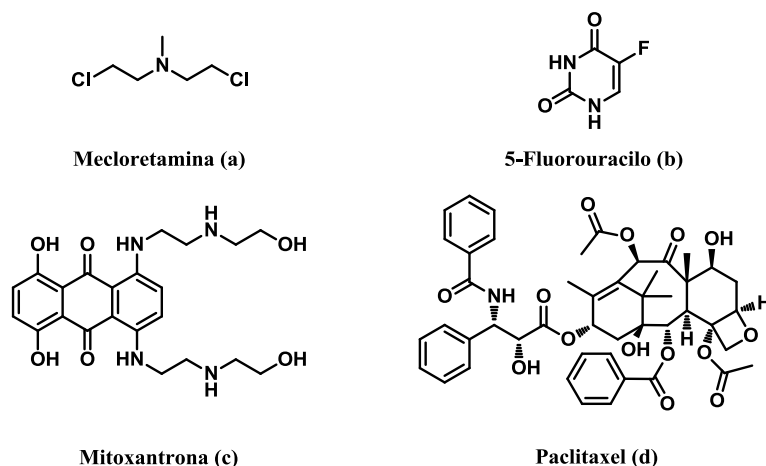
- Cirugía: se utiliza para la eliminación de tumores y, en algunas ocasiones, también se eliminan los tejidos de alrededor y los nódulos linfáticos, evitando así posibles metástasis.
- Terapia hormonal: mediante el uso de las hormonas se impide que las que están favoreciendo el crecimiento del cáncer lo sigan haciendo.
- Inmunoterapia: se intenta utilizar el sistema inmune del cuerpo, de forma directa o indirecta, para que éste elimine las células cancerígenas, evitando así los efectos secundarios de otro tipo de tratamiento.
- Quimioterapia: es el uso de compuestos químicos como antitumorales, destruyen las células mediante la interrupción del ciclo celular en alguno de sus puntos y, por lo tanto, la detención de su crecimiento.

Dentro de la quimioterapia existen distintas familias de compuestos, que pueden clasificarse en varias categorías en función de cómo actúan y cómo afectan a las células malignas. Las familias de compuestos más importantes son:

1. Agentes alquilantes:<sup>18</sup> actúan directamente sobre el ADN, normalmente cuando la célula está en reposo, para evitar que las células tumorales sigan reproduciéndose. Existen varios tipos, como:
  - Derivados del gas mostaza, como por ejemplo, la mecloretamina (figura 3, **a**) o la ciclofosfamida.
  - Etileniminas (por ejemplo, tiotepa y hexametilmelamina).
  - Alquilsulfonatos (por ejemplo, busulfán).
  - Hidrazinas y triazinas (por ejemplo, altretamina, procarbazona y dacarbazina).
  - Nitrosoureas (por ejemplo, carmustina, lomustina y estreptozocina).
  - Complejos metálicos (por ejemplo, cisplatino, carboplatino y oxaliplatino).
2. Antimetabolitos:<sup>19</sup> se trata de fármacos que interfieren en los procesos metabólicos intracelulares. La mayoría de los fármacos de este grupo son análogos de bases púricas (mercaptopurina) y pirimidínicas (citarabina o 5-fluorouracilo, representado en figura 3, **b**). Se ha postulado que estas bases nitrogenadas son capaces de sustituir al sustrato natural interfiriendo así el proceso de síntesis y duplicación del ADN.
3. Antibióticos citostáticos: este tipo de compuestos no funcionan igual que los antibióticos empleados para las infecciones y, suelen actuar alterando el ADN

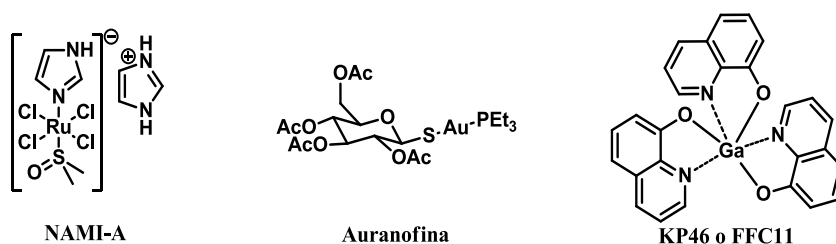
por mecanismos muy variados (como ejemplos, mitoxantrona (figura 3, c) y doxorubicina).

4. Inhibidores mitóticos<sup>20</sup> son capaces de frenar el proceso de reproducción celular así como la acción de las enzimas responsables de la división celular (por ejemplo, el paclitaxel en figura 3, d).



**Figura 3**

De todos los compuestos que se encuentran actualmente en el mercado, los complejos de platino representan un porcentaje muy pequeño en comparación con los fármacos orgánicos. Otros metales que han dado lugar a compuestos actualmente en fase clínica son el rutenio, el galio, el oro y el hierro, entre otros (algunos ejemplos de este tipo de complejos se recogen en la figura 4). Así, el compuesto de rutenio(III), NAMI-A, ha entrado en la fase II de los ensayos clínicos como prodroga antimetastática,<sup>21</sup> la auranofina, empleada como antirreumático, se encuentra en fase II en los Estados Unidos para el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica<sup>22</sup> y, finalmente, el complejo de galio(III), KP46, está en fase I para el tratamiento de melanomas.<sup>23</sup>



**Figura 4**



### 1.3. Cisplatino y derivados. Su uso como antineoplásicos

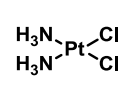
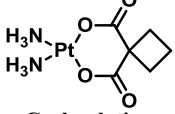
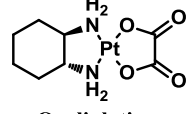
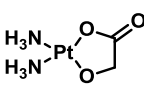
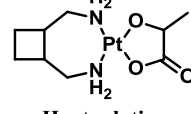
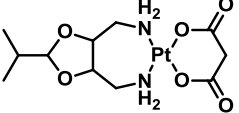
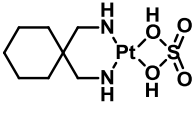
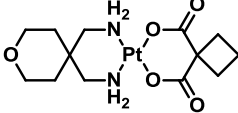
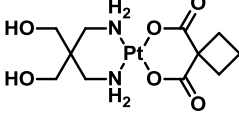
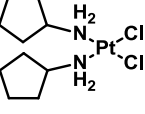
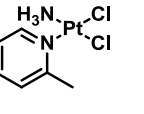
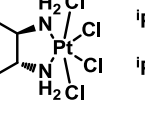
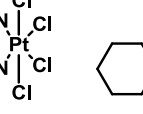
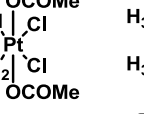
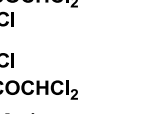
El cisplatino fue sintetizado por primera vez por el químico italiano Peyrone en 1844,<sup>24</sup> siendo originalmente conocido como cloruro de Peyrone. Este complejo jugó un papel importante en el trabajo del premio Nobel Alfred Werner basado en la isomería de complejos inorgánicos.<sup>25</sup> Sin embargo, un siglo después, en 1965, Barnett Rosenberg y colaboradores mostraron a la comunidad científica sus propiedades antineoplásicas.<sup>3</sup> Este descubrimiento accidental surgió del estudio del efecto del campo eléctrico en el crecimiento de bacterias *Escherichia coli* (*E. coli*) utilizando electrodos de platino. Las bacterias dejaban de dividirse una hora después de pasar corriente eléctrica a través del cultivo. Debido a que durante la electrólisis estaban presentes en la disolución iones cloruro y amoníaco se formaron varios complejos de platino, entre ellos el *cis*-diaminodicloroplatino(II), que demostró ser el más efectivo inhibiendo el crecimiento bacteriano.

El cisplatino se comenzó a utilizar en ensayos clínicos a principios de los años 70,<sup>26</sup> descubriéndose que poseía una alta actividad contra el cáncer de próstata, de ovarios, de vejiga y linfomas, y pasó a ser el fármaco antitumoral más utilizado debido a su actividad terapéutica, tanto en ese tipo de neoplasias como en otro número de tumores sólidos, siendo aprobado para su uso por la FDA en 1978,<sup>27</sup> bajo el nombre de Platinol®.<sup>28</sup> Dos de sus mayores problemas son su alta nefro-<sup>29</sup> y neurotoxicidad,<sup>30</sup> lo que originó la búsqueda de otro tipo de compuestos de platino que fueran análogos en su actividad antitumoral, pero con menores efectos secundarios. En el año 1989 se desarrolló el carboplatino (aprobado por la FDA bajo el nombre de Paraplatino®)<sup>28</sup> (tabla 1), presentando unos efectos citotóxicos similares<sup>31</sup> al cisplatino y siendo su principal efecto adverso la toxicidad hemotopoyética.<sup>32</sup>

Otro fármaco basado en platino aprobado por la EMEA en 1999 y por la FDA en 2002 ha sido el oxaliplatino (tabla 1).<sup>33</sup> Este compuesto es particularmente efectivo combinado con el 5-fluorouracilo o 5-FU (figura 3, **b**) contra el cáncer colorrectal metastático siendo, además, menos nefro- y ototóxico que el cisplatino. También se puede emplear en tumores que presentan resistencia al cisplatino mostrando una menor mielosupresión en comparación con el carboplatino. La limitación de este fármaco es que produce neuropatía periférica.<sup>34</sup>

En la tabla 1 se recogen los compuestos de platino actualmente en fase clínica, los que están en estudio y los descartados por distintas razones. Las ventajas del nedaplatino son su menor nefro-<sup>35</sup> y neurotoxicidad con respecto al cisplatino y carboplatino.

**Tabla 1.** Compuestos de platino aprobados, en estudio o descartados de los ensayos clínicos.<sup>36</sup>

				
Cisplatino	Carboplatino	Oxaliplatino	Nedaplatino	Heptaplatino
				
Lobaplatino	Esiroplatin	Enloplatin	Zeniplatino	
				
PAD	Picoplatino	Tetraplatino	Iproplatino	Satraplatino
				
				Mitaplatino

Compuesto	Uso	Estado actual
Cisplatino	Cáncer de cabeza y cuello, testículos, ovarios, cérvix y pulmón de células no pequeñas (CPCP)	Aprobado (mundialmente)
Carboplatino	Cáncer de cabeza y cuello, testículos, pulmón, ovarios, cérvix y CPCP	Aprobado (mundialmente)
Oxaliplatino	Cáncer de colon	Aprobado (mundialmente)
Nedaplatino	Cáncer de cabeza y cuello, testículos, ovarios, cérvix, pulmón y CPCP	Aprobado (Japón) Fase II (EEUU)
Heptaplatino	Cáncer gástrico, de cabeza y cuello y CPCP	Aprobado (Corea del Sur)
Lobaplatino	Cáncer de esófago, ovario, mama metastásico, leucemia mielógena crónica y CPCP	Aprobado (China), fase III (EEUU)
Esiroplatin	Cáncer de ovario	Descartado fase II
Enloplatin	Carcinoma avanzado de ovario refractario	Descartado fase II
Zeniplatino	Cáncer de ovario	Descartado fase I
PAD	Leucemia	Descartado fase I
Picoplatino	CPCP	Fase III
Tetraplatino u Ormaplatino	Melanoma, sarcoma, leucemia, cáncer de mama y enfermedades refractarias	Descartado fase I
Iproplatin	Cáncer de ovario, mama metastásico, cabeza y cuello y CPCP	Descartado fase II
Satraplatino	Cáncer de próstata	Fase III
Mitaplatino	Datos no disponibles	Fase I

El efecto limitante de la dosis para el lobaplatino es la trombocitopenia (reducción del número de plaquetas en sangre) y sus ventajas son que no presenta la misma nefro-, neuro- y ototoxicidad que el cisplatino. El heptaplatino aparenta ser eficaz contra las líneas de tumor resistentes al cisplatino, como contrapartida produce hepatotoxicidad y mielosupresión en grado medio, siendo la nefrotoxicidad el efecto limitante de la dosis.

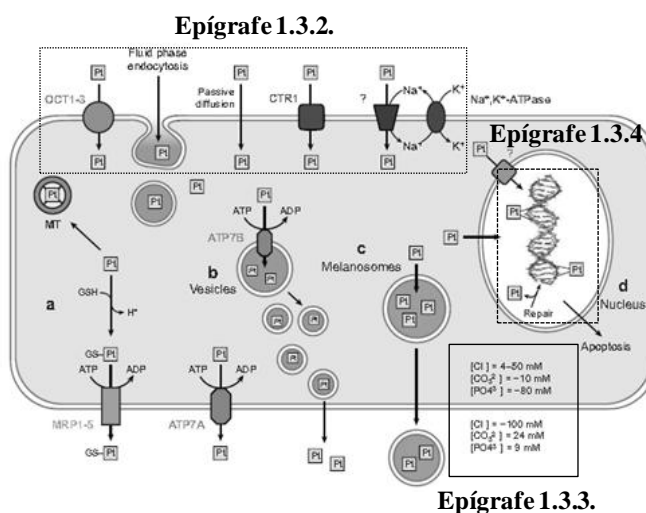
El abandono de alguno de estos compuestos, en fases I o II, ha sido debido a una baja eficacia, una alta toxicidad y/o una baja solubilidad en agua. Por lo tanto, es necesaria la búsqueda de nuevos compuestos de platino que ofrezcan ventajas sobre los actuales y que permitan solventar los problemas aquí descritos. Por otro lado, también se han investigado compuestos de Pt(IV) como el ormaplatino y el iproplatino que han sido descartados, siendo únicamente el satraplatino evaluado actualmente en Fase III.

### 1.3.1. Mecanismo de acción del cisplatino

El mecanismo de acción del cisplatino no está, aún, del todo claro, aunque, se puede establecer que existen tres procesos diferenciados, siendo éstos los siguientes:

1. Acumulación de platino (epígrafe 1.3.2.)
2. Activación del complejo (epígrafe 1.3.3.)
3. Proceso celular (epígrafe 1.3.4.)

La Figura 5<sup>37</sup> representa lo que se produce en la célula cuando el cisplatino entra en ella. En los siguientes epígrafes se detalla cada una de estas fases y cómo el complejo de platino induce la muerte celular.



**Figura 5**

### 1.3.2. Acumulación de cisplatino intracelular

En la actualidad, no se conoce con claridad el mecanismo por el que el cisplatino y sus derivados entran en la célula. Durante muchos años se pensó que la entrada del cisplatino a la célula se producía por difusión simple.<sup>38</sup> Sin embargo, en 1981 se hizo la primera propuesta donde se describía que el transporte del cisplatino al interior de la célula podría estar mediado por transportadores de membrana.<sup>39</sup> Algunos de estos transportadores pueden ser la bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa,<sup>40</sup> o las distintas proteínas transportadoras que se encuentran en la membrana<sup>41</sup> (*Solute Carrier*). Dentro de este último tipo de familia de proteínas, el transportador de cobre 1 (copper transporter 1, CTR1) ha tomado especial relevancia desde que se descubrió que había una relación directa entre la disminución en la acumulación intracelular de cisplatino y un defecto en el gen *Ctr1* de la levadura.<sup>42</sup> La figura 6 representa un modelo de entrada del cisplatino en la célula mediante CTR1 de la levadura, mostrando, además, que la formación de vesículas endocíticas puede inducir la inactivación del fármaco en el líquido intracelular.<sup>43</sup> Este trabajo pone de manifiesto que los mecanismos de entrada y salida de moléculas por distintos transportadores de membrana y los procesos de endocitosis, también, tienen un papel importante.<sup>44</sup> Así mismo, posteriores ensayos, comparando fibroblastomas de ratones modificados genéticamente (*ctr1*<sup>-/-</sup>) con los “wild type” (*ctr1*<sup>+/+</sup>) se probó que la acumulación intracelular tanto de cisplatino como de carboplatino estaba atenuada en los ratones *ctr1*<sup>-/-</sup> demostrando, así, que existe una relación entre el transportador de cobre y la acumulación de los complejos de platino en el medio intracelular.<sup>45</sup> Recientemente, se ha demostrado que el transportador de cobre 2 (CTR2) limita la acumulación del cisplatino y que, además, los niveles de CTR2 están implicados

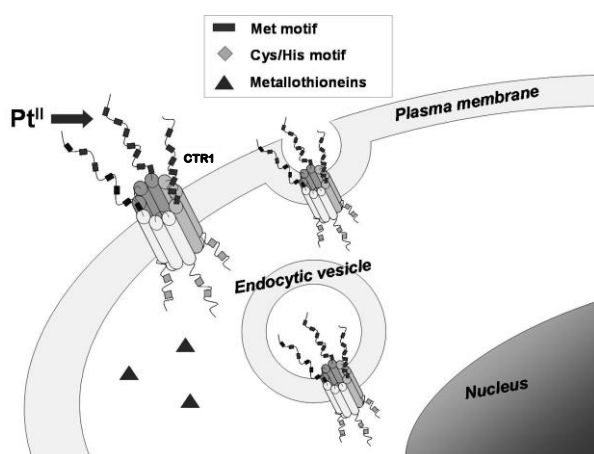


Figura 6

en la sensibilidad a este fármaco en las células de carcinoma de ovario.<sup>46</sup> Por este motivo, se considera que la resistencia adquirida al cisplatino puede deberse a una disminución de la proteína transportadora de cobre. Ésto no está completamente demostrado, ya que algunos complejos de platino con ligandos más hidrofóbicos presentan la misma acumulación en el líquido intracelular tanto en células resistentes, como en sensibles al cisplatino.<sup>47</sup> Por tanto, se puede concluir que el cisplatino entra en las células mediante transporte pasivo (difusión simple y facilitada) y/o por transporte activo. Dependiendo del tipo de células, pueden estar involucrados distintos tipos de transportadores.

### 1.3.3. Activación del cisplatino mediante la formación de acuospecies

En 1994, Lippard y Berg<sup>48</sup> describieron el mecanismo de actuación del cisplatino. En la figura 7 se muestra la ruta propuesta desde la inyección del cisplatino por vía intravenosa hasta que alcanza su diana final, el ADN. El compuesto *cis*-DDP debe ser estable en el torrente sanguíneo y los fluidos extracelulares, donde la concentración de cloruros es alta (>100 mM). Posteriormente, el complejo entra en la célula a través de procesos de difusión y, una vez dentro de ésta, la baja concentración de cloruros (4-20 mM) y alta concentración de agua ~50 M favorecen la hidrólisis del compuesto, dando lugar a las acuospecies cargadas positivamente que alcanzan el núcleo, siendo capaces de interaccionar con el ADN.

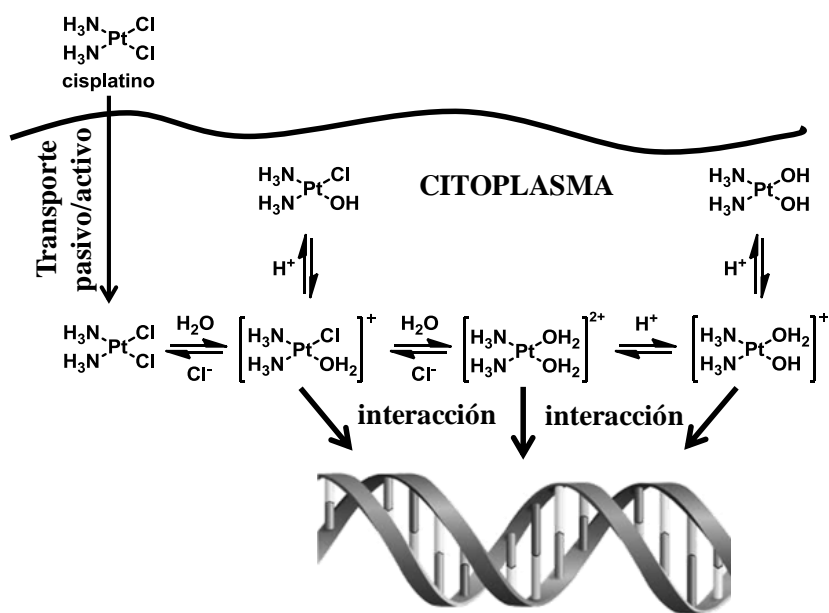


Figura 7

Se estima que aproximadamente el 1% de cisplatino intracelular interacciona con el ADN,<sup>49</sup> dando lugar principalmente a la formación de enlaces intracatenarios entre dos purinas adyacentes (esta unión representa el 90% del total de los aductos Pt-ADN), siendo estos enlaces el principal mecanismo de citotoxicidad del cisplatino, con la consiguiente inducción a la apoptosis.<sup>50</sup> Pero a día de hoy, después de los estudios que se han llevado a cabo, se puede decir que el mecanismo no es tan simple, ni está del todo elucidado, incluso llegando algunos autores a proponer que la citotoxicidad del cisplatino comienza en el citoplasma y no en el núcleo por la interacción con el ADN.<sup>51</sup>

#### 1.3.4. Aductos responsables de la apoptosis

Actualmente, está aceptado que la unión del cisplatino con el ADN genómico (ADNg) es la causa principal de sus propiedades antitumorales.<sup>52</sup> La interacción del cisplatino al ADN causa una distorsión en la estructura de doble hélice provocando una inhibición en los procesos normales del núcleo, como son la replicación y la transcripción. Como se ha descrito antes, la desregulación de estos dos procesos es fundamental para la formación de células tumorales, con lo que su inhibición es el detonante de la citotoxicidad de estos compuestos. También se sabe que el cisplatino forma una gran cantidad de aductos con el ADN mitocondrial (ADNm), favorecidos por la carencia de histonas<sup>52b</sup> y, además, el daño que provoca se mantiene por la ausencia del sistema de reparación por escisión de nucleótidos (*Nucleotide Excision Repair*, NER).<sup>53</sup> Por esta razón se está considerando que el ADNm sea también una diana farmacológica a considerar para el cisplatino.<sup>54</sup>

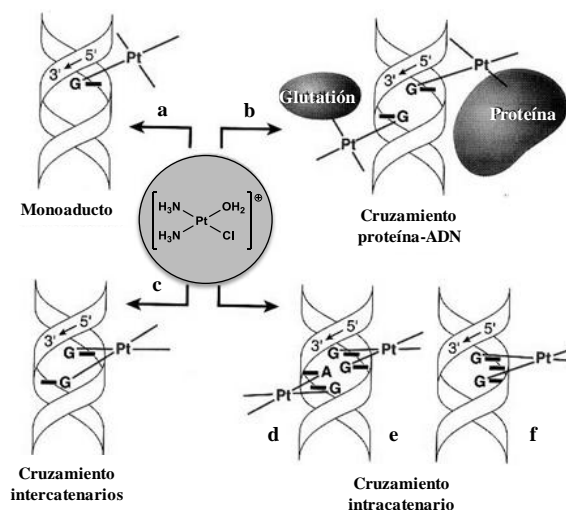


Figura 8

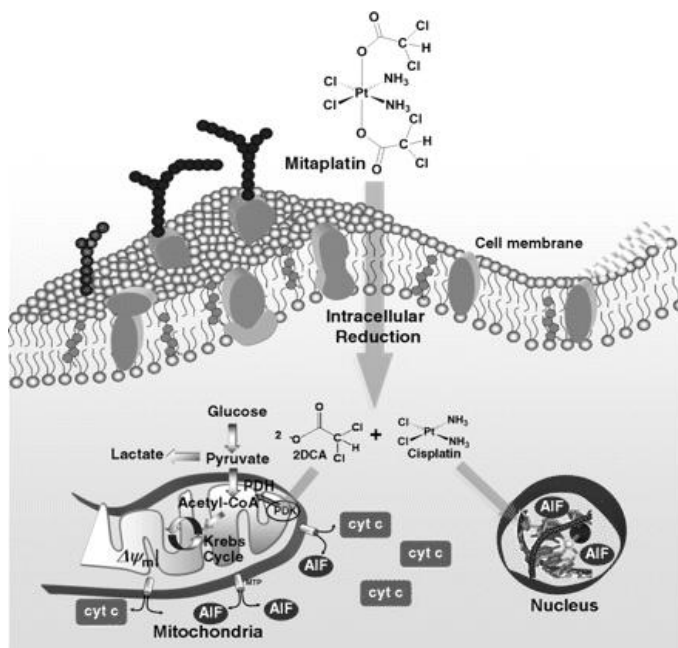
Se han propuesto distintos tipos de interacciones del cisplatino con el ADN (figura 8),<sup>55</sup> desde la interacción monoaducto (a), y cruzamiento intercatenarios (c), hasta la posibilidad de cruzamientos intracatenarios (d, e y f).<sup>56</sup> En los últimos años se ha considerado también la interacción de los complejos de platino con el ADN y, al mismo tiempo, con proteínas (b).<sup>57</sup> El N7 de la guanina y adenina, localizados en el surco mayor de la doble hélice, son los lugares de unión más accesibles, además de ser unos nucleófilos muy reactivos para el cisplatino.<sup>58</sup> Se ha calculado que el 60-65% de los aductos formados con el ADN son aquellos con guaninas adyacentes 1,2-d(GpG), que parecen ser los más importantes en la actividad anticancerígena, mientras que la unión 1,2-d(ApG) representa el 20-25% del total de los aductos. El resto del porcentaje corresponde a las uniones cruzadas 1,3-intracatenarias (f), intercatenarias y proteína-guanina.

Como ejemplo de la importancia de los entrecruzamientos se ha encontrado una relación directa entre la cantidad de éstos y la respuesta al tratamiento en cáncer de pulmón de células no pequeñas, siendo mejor esta última cuanto mayor sea el número de cruzamientos 1,2-intracatenarios.<sup>59</sup>

#### **1.4. Complejos de Pt(IV) con geometría *cis***

Los complejos de platino(II) se emplean ampliamente como agentes quimioterapéuticos, pero su eficacia está limitada principalmente por los efectos adversos que presentan. Los compuestos de platino(IV) podrían ofrecer la oportunidad de eliminar algunos de esos inconvenientes, puesto que por un lado la geometría octaédrica introduce dos ligandos apicales adicionales que pueden alterar la solubilidad del complejo haciéndolo más lipofílico o hidrofílico, podrían llegar a suministrarse por vía oral y, además, ofrecer por si mismos una citotoxicidad adicional una vez liberados los ligandos apicales debidamente escogidos. Por otro lado, la inercia cinética de estos complejos hace que su reactividad sea menor, con lo que aumenta la probabilidad de que lleguen a la célula diana intactos evitando así los efectos secundarios.<sup>60</sup> A modo de ejemplo, en la figura 9 se muestra como el mitaplatino, que ha entrado en fases clínicas recientemente, una vez se encuentra en el medio intracelular es reducido por acción de las biomoléculas del citosol liberando, de este modo, una molécula de cisplatino por dos de dicloroacetato. El primero interaccionará con el ADN en el núcleo, mientras que el segundo estimulará la actividad de la enzima piruvato deshidrogenasa quinasa. Como tal, reduce la producción de lactato desplazando el metabolismo del piruvato (la glicólisis) hacia la oxidación, en la mitocondria; disminuye el potencial de la membrana mitocondrial,

aumenta los niveles de peróxido de hidrógeno en la mitocondria y activa los canales de potasio en todos los tipos de cáncer (sin afectar las mitocondrias de las células normales).<sup>61</sup>



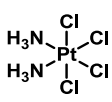
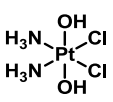
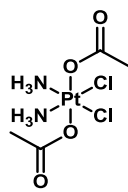
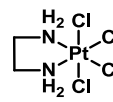
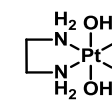
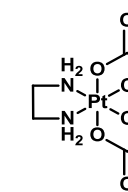
**Figura 9**

Los potenciales de reducción de los complejos de platino(IV) con ligandos amina dependen tanto de la naturaleza de los ligandos ecuatoriales como de los axiales, aunque estos últimos ejercen, generalmente, una mayor influencia. Independientemente de qué ligandos estén presentes en las posiciones ecuatoriales, el complejo será más fácil de reducir si los ligandos axiales son cloruros (a y d, tabla 2) y, en cambio, más difícil si son hidroxos (b y e, tabla 2). Entre estos dos potenciales se encuentran los de los complejos con ligandos carboxilatos<sup>62</sup> (c y f, tabla 2).<sup>63</sup>

Dentro de las células existen biomoléculas con capacidad reductora, como el glutatión,<sup>64</sup> el ácido ascórbico, el NADPH y las proteínas ricas en cisteína,<sup>60</sup> todas ellas capaces de reducir el Pt(IV) a Pt(II). Los complejos de platino(IV) pueden ser reducidos antes de entrar en la célula, pero es más probable que dicha reducción se produzca intracelularmente, porque la concentración de estos reductores biológicos en el plasma es inferior a la encontrada dentro de la célula. Así, por ejemplo, los niveles de glutatión intracelular son 1-10 mM y en el plasma 2 μM.<sup>65</sup>



**Tabla 2.** Potenciales de reducción<sup>60,66</sup> y citotoxicidad<sup>66,67</sup> de complejos de platino(IV) derivados del cisplatino y *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(en)].

					
a	b	c	d	e	f
Complejo	E <sub>p</sub> /mV	IC <sub>50</sub> (μM) en A2780 <sup>a</sup>	% Inhibición en L1210 <sup>b</sup>		
a	-260	3,3	-		
b	-880	21,9	-		
c	-640	17,9	-		
d	-4	-	71		
e	-664	-	45		
f	-326	-	49		

<sup>a</sup> IC<sub>50</sub> (μM) en línea celular de cáncer de ovario (A2780). <sup>b</sup> % Inhibición de crecimiento en la línea celular de leucemia linfocítica en ratón (L1210).

Aunque no hay una relación clara entre la citotoxicidad de un complejo y su potencial de reducción, entre aquellos que pertenecen a una misma familia de complejos se puede establecer una relación, y se ha observado que la citotoxicidad de un complejo es mayor cuanto mayor sea su potencial de reducción.<sup>67</sup> A pesar de las ventajas que presentan estos complejos como profármacos, actualmente no hay ningún complejo de platino(IV) aprobado en el mercado y de los tres que estaban en clínica sólo uno de ellos (Satraplatino) continúa dentro de los ensayos, en fase III.

Más recientemente, se ha descrito que una forma eficaz de provocar esa reducción es mediante el uso de fotorradiación, la cual puede favorecer un incremento en la constante de reducción del Pt(IV) a Pt(II), tanto dentro como alrededor del tejido tumoral. Esto proporcionaría una terapia más efectiva y menos tóxica que la vigente. Como ejemplos destacados de complejos de platino(IV) que muestran actividad citotóxica después de haber sido fotorreducidos se encuentran:

- *cis,trans,cis*-[PtI<sub>2</sub>(OCOCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(en)]:<sup>68</sup> La citotoxicidad de este complejo en células cancerígenas humanas aumentó en un 35% cuando las células fueron tratadas con luz (λ > 375 nm).

- *cis,trans,cis*-[Pt(N<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] y *cis,trans,cis*-[Pt(N<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>(en)]:<sup>69</sup> Son análogos al cisplatino con grupos diazido que pueden ser activados tanto por luz visible como UV, habiéndose demostrado que se produce unión a la GMP después de la fotorreducción.
- *cis,trans,cis*-[PtCl<sub>2</sub>(OCOR)(NH<sub>3</sub>)(R<sup>1</sup>NH<sub>2</sub>)] (R, R<sup>1</sup>: grupo alquílico):<sup>70</sup> los compuestos dicarboxilato de platino(IV) tienen una actividad citotóxica mucho mayor que el cisplatino (840 veces mayor) en los ensayos *in vitro*, pero ninguno ha presentado, hasta el momento, una actividad significativa *in vivo*.

### 1.5. Compuestos *trans*-Pt(II) con estructura “no convencional”

El descubrimiento de que varios complejos *trans* de platino(II) presentaban actividad antitumoral, tanto *in vitro* como *in vivo*, contra células resistentes al cisplatino, forzó a reevaluar la relación estructura-actividad (*structure-activity relationship*, SAR) de estos agentes antineoplásicos.<sup>71</sup> Las diferencias notables entre estos dos tipos de geometría se deben a la diferente formación de los aductos del ADN (figura 10). En la actualidad se pueden encontrar un gran número de complejos *trans* con actividad citotóxica, los cuales podemos clasificarlos en función de la naturaleza de los ligandos.

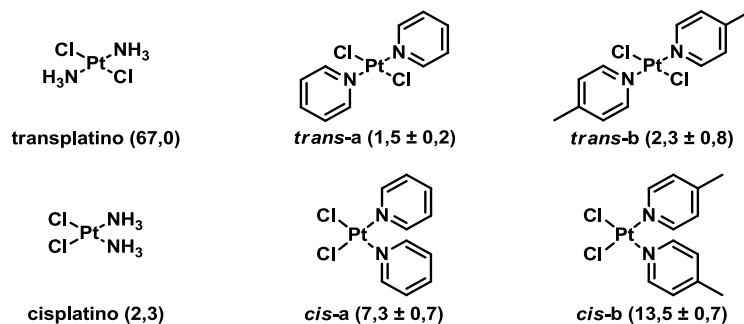


Figura 10

#### 1.5.1. Complejos *trans*-[PtCl<sub>2</sub>L<sub>2</sub>] donde L son aminas aromáticas planas

Farrell *et col.* pensaron que la sustitución del NH<sub>3</sub> en el *trans*-[PtCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] por ligandos estéricamente impedidos podría dar lugar a una reducción de la constante de desplazamiento de los ligandos cloruros por ligandos acuo<sup>72</sup> y quizás de este modo, aumentar su citotoxicidad. Así, se sintetizaron varios complejos de platino(II)<sup>73</sup> con geometría *trans* y aminas planas aromáticas, siendo los complejos estudiados 10 veces más activos que el transplatino, con unas citotoxicidades casi equivalentes a la de sus isómeros *cis* e, incluso, en algunos casos, a la del cisplatino. Los primeros complejos en mostrar una citotoxicidad mayor a la de sus isómeros *cis* fueron aquellos donde L = piridina y L = 4-metilpiridina. Los estudios de citotoxicidad se realizaron en la línea

celular L1210 (leucemia linfocítica de ratón) mostrando valores de  $IC_{50}$  ( $\mu M$ ) casi similares al cisplatino. En la figura 11 se recogen los valores  $IC_{50}$  de los compuestos *cis* y *trans* junto con sus desviaciones estándar.



**Figura 11**

Los complejos con ligandos quinolina, triazol, benzotiazol e isoquinolina, también presentaron una mayor actividad citotóxica en células resistentes al cisplatino que en aquellas sensibles a él.<sup>74</sup> Estudios de las uniones de estos compuestos con el ADN demostraron que los complejos con aminas planas generan más cruzamientos intercatenarios que el cisplatino.<sup>75</sup> Es de destacar que los aductos intercatenarios de estos complejos con aminas planas son prácticamente iguales a los que forma el cisplatino (uniones por los N7 entre dos guaninas). Por el contrario, dichos aductos son completamente distintos a los entrecruzamientos del transplatino, ya que en las uniones del transplatino están involucrados el N7 de la guanina y el N3 de la citosina.<sup>76</sup> Adicionalmente, el estudio de los mecanismos biológicos reveló que los fragmentos de ADN producidos por los complejos con aminas planas eran debidos a las rupturas realizadas por proteínas cuando se desencadenaban mecanismos de reparación. Así, los autores explican y comprueban que la abundancia de fragmentos de ADN se debe a que el complejo con  $L = \text{tiazol}$  es un inhibidor de la topoisomerasa I, que es una de las proteínas involucradas en los mecanismos de reparación de la doble hélice.

### 1.5.2. Complejos *trans*-[PtCl<sub>2</sub>L<sub>2</sub>] donde *L* son iminoéteres

La sustitución de un ligando  $NH_3$  del transplatino por un ligando iminoéter dio lugar, también, a un aumento considerable de la citotoxicidad.<sup>77</sup> Sin embargo, solamente uno de los compuestos sintetizados mostraba una citotoxicidad similar a la del cisplatino y sólo en una línea celular. En cambio, los complejos *trans* con dos ligandos iminoéteres dieron como resultado un incremento en la citotoxicidad, siendo mejores que sus análogos

*cis* y comparables al cisplatino, mostrando, además, actividad antitumoral en células resistentes al mismo.<sup>78</sup> Cabe destacar que la actividad antineoplásica de estos compuestos también está relacionada con la isomería del doble enlace del iminoéter. Los estudios citotóxicos en células P388 de leucemia murina muestran diferencias según la geometría que adopte el doble enlace, presentando una mayor citotoxicidad el complejo *trans-ZZ* que el *trans-EE*, por lo que se ha estudiado en profundidad el mecanismo biológico que conduce a la citotoxicidad de los compuestos con ligandos iminoéteres con configuraciones *EE*<sup>79</sup> y *ZZ*.<sup>80</sup>

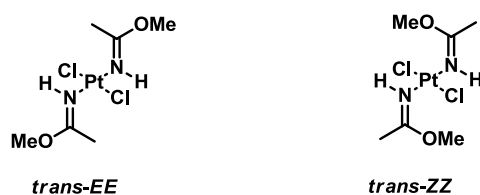


Figura 12

El complejo *trans-EE* forma principalmente monoadductos con un resto guanina del ADN y, también, es capaz de unirse después de interaccionar con la base nitrogenada, a proteínas. Este tipo de aducto es diferente a los que forma el cisplatino, provoca un aumento en la citotoxicidad al evitar la replicación del ADN (vía ADN polimerasa), y es capaz de impedir la reparación de la doble hélice por inhibición de la eliminación de este aducto del ADN mediante mecanismos NER. Por otro lado los compuestos *trans-ZZ* forman aductos con el ADN que se transforman lentamente en entrecruzamientos intercatenarios entre residuos citosina y guanina complementarios. Estos cruzamientos intercatenarios influyen en la flexibilidad de las cadenas de la doble hélice, no siendo reconocidos por las proteínas HMGB1.

### 1.5.3. Complejos *trans*-[PtCl<sub>2</sub>L<sub>2</sub>] donde L son aminas alifáticas

Nuestro grupo de investigación tiene una amplia experiencia en la síntesis de complejos de platino y paladio,<sup>81</sup> siendo los primeros los que más se han estudiado.<sup>82</sup> La mayoría de los compuestos sintetizados presentan geometría *trans*, con distintas aminas alifáticas en *trans*. En este sentido, se ha demostrado que los complejos asimétricos con aminas alifáticas de fórmula general *trans*-[PtCl<sub>2</sub>(amina)(isopropilamina)] (amina = metil, dimetil y butil) muestran tener una citotoxicidad parecida o superior a la del cisplatino en células sensibles (Jurkat, HeLa, Vero) y resistentes (HL-60, Pam 212-ras) a este último.<sup>83</sup> Además, el estudio de estos complejos con sus análogos en *cis*, puso de

manifiesto que los isómeros *trans* tienen una mayor actividad antitumoral que los correspondientes *cis* y que el compuesto con mejor citotoxicidad fue el *trans*-[PtCl<sub>2</sub>(dimetil)(isopropilamina)]. Las líneas celulares empleadas en los primeros estudios fueron tanto sensibles (CH1 y Pam212) como resistentes (CH1cisR y Pam 212-ras) al cisplatino.<sup>84</sup>

Otros ligandos considerados en *trans* a las aminas alifáticas fueron las fosfinas,<sup>85</sup> intentando, de este modo, aumentar la lipofilia de los complejos para conseguir una mayor permeabilidad de membrana y, en consecuencia, una mayor concentración del complejo en el líquido intracelular, dando como resultado un incremento en la probabilidad de interacción con el ADN. Una comparación de la actividad del cisplatino y el transplatino con la de los nuevos compuestos sintetizados de platino(II) (figura 13) demostró que la citotoxicidad de estos complejos es similar o mayor que la del *cis*-DDP. De este modo, se puede suponer que el incremento de actividad se produce por los ligandos hidrofóbicos fosfina. Además, es destacable que los compuestos no presentan resistencia cruzada con el cisplatino y parece que tienen un mecanismo de acción diferente, mientras que el cisplatino detiene el ciclo celular en las fases G1/S y G2/M, en los complejos mencionados el ciclo se detiene en la fase G2/M (datos obtenidos por citometría de flujo).

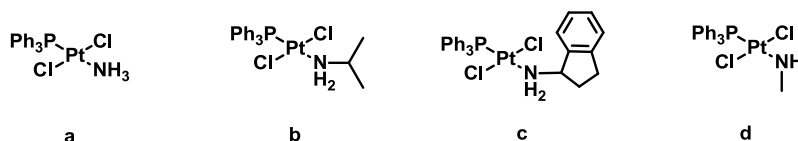


Figura 13

En los últimos años, nuestro grupo de investigación se ha interesado en la sustitución de los grupos salientes cloruros por yoduros.<sup>86</sup> Partiendo del supuesto de que los complejos de platino con yodo podrían tener un mecanismo de acción diferente a sus análogos con cloro, se realizaron una serie de estudios utilizando, para ello, el complejo *cis*-[PtI<sub>2</sub>(isopropilamina)<sub>2</sub>]. Se evaluó su citotoxicidad frente a varias líneas celulares y, además, su interacción con el plasmido pBR322 y el citocromo c como ejemplo de proteína globular. A modo de conclusión se confirma que este compuesto de platino con yoduros tiene un mecanismo de acción distinto al del cisplatino porque, aunque presenta una buena actividad antitumoral, tiene una baja interacción con el ADN y exhibe una reactividad nada convencional con el citocromo c, debido a la pérdida de sus aminas en vez de los yoduros. Además, se ha estudiado la influencia que tiene la geometría en este

tipo de compuestos con respecto a su citotoxicidad. Para ello, se sintetizaron seis nuevos complejos de Pt-iodo (figura 14) con aminas alifáticas e isomería *cis* y *trans*. Los compuestos con geometría *trans* mostraron mejores citotoxicidades comparadas con las de sus análogos *cis*, excepto para el complejo  $[\text{PtI}_2(\text{metilamina})_2]$ , donde ambos isómeros tienen actividades antiproliferativas similares. Por último, la técnica de citometría de flujo puso de manifiesto que los complejos **a** y **b** (figura 14) presentan un mecanismo de acción diferente al *cis*-DDP. Aunque se han realizado más ensayos de interacción de estos complejos (algunos con proteínas) para aclarar su mecanismo, por el momento, los resultados no son concluyentes.

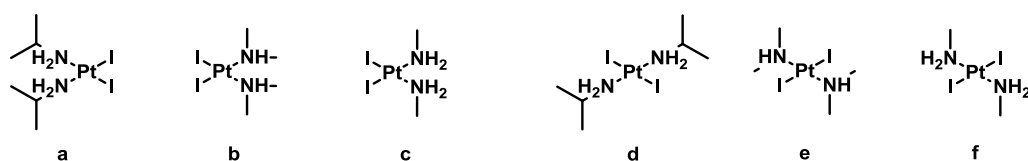


Figura 14

### 1.6. Compuestos de Pt(IV) con geometría *trans*

La insolubilidad en agua del cisplatino y su baja biodisponibilidad impide que, como se ha indicado anteriormente, sea un fármaco administrado por vía oral,<sup>87</sup> por ello, al igual que en el caso de complejos con geometría *cis*, se ha desarrollado una nueva clase de compuestos derivados del Pt(IV) que presentan una mayor solubilidad en agua, facilitando así su posible administración. Además, son neutros y suficientemente estables como para sobrevivir al medio gástrico, siendo los complejos de platino(IV) mucho más inertes a las reacciones de sustitución que sus análogos de Pt(II).<sup>88</sup> A fin de racionalizar el diseño de nuevos complejos de platino(IV) es necesaria una correlación entre estructura, potencial de oxidación-reducción y actividad citotóxica, ya que se ha demostrado que los complejos de platino(IV) deben ser reducidos a Pt(II) para producir su citotoxicidad en el medio intracelular. En este sentido, la geometría *trans* podría mostrar una actividad diferente a la *cis*. En la bibliografía se han descrito numerosos complejos de Pt(IV) con geometría *trans* obtenidos mediante la oxidación de los correspondientes complejos *trans*-Pt(II) con peróxido de hidrógeno.<sup>89</sup> Así mismo, los complejos de platino(IV) dicarboxilato, dicarbonato y dicarbamato han sido sintetizados a partir de las especies dihidróxido por una reacción de carboxilación con anhídridos,<sup>90</sup> pirocarbonatos<sup>91</sup> y alquilisocianatos,<sup>92</sup> respectivamente.

Con el fin de comparar la actividad de los complejos de Pt(II) nuestro grupo de investigación también consideró el estudio de los complejos *trans* de Pt(IV) obtenidos

por oxidación de los análogos de Pt(II). Anteriormente, un estudio de compuestos *trans* con ligandos como dimetilamina, propilamina y butilamina puso de manifiesto que el complejo con mayor citotoxicidad es el *trans*-[PtCl<sub>2</sub>(dma)(mipa)],<sup>93</sup> se sintetizó el análogo platino(IV) aumentando, de este modo, su solubilidad.<sup>94</sup> Se comparó la actividad del complejo de platino(II), *trans*-[PtCl<sub>2</sub>(dimetilamina)(isopropilamina)], y su correspondiente hidroxoplato(IV) en seis líneas celulares de carcinoma de ovario, tres de ellas sensibles (A2780, CH1, 41M) y las otras tres resistentes al cisplatino (A2780cisR, CH1cisR, 41McisR). Dichas líneas fueron seleccionadas para poder estudiar los mecanismos principales de resistencia al cisplatino. En vista de los datos (expuestos en tabla 3) se puede concluir que tanto el platino(II) como el Pt(IV) no tienen problemas a la hora de eludir la reparación/tolerancia del ADN, aunque presentan diferencias en la acumulación intracelular de los mismos. Así, el platino(II) entra peor en la célula resistente (CH1cisR) que el análogo de platino(IV). Ensayos *in vivo* con los compuestos *trans*-[PtCl<sub>2</sub>(dma)(mipa)] y *trans,trans,trans*-[PtCl<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>(dma)(mipa)] permitieron concluir que mientras que el platino (II) sólo es activo *in vitro*,<sup>94</sup> el complejo de platino(IV) presenta actividad antitumoral en ambos sistemas.

**Tabla 3.** Datos de citotoxicidad<sup>89</sup> de los complejos de platino(II) y platino(IV).<sup>a</sup>

Compuesto	GI <sub>50</sub> (μM)					
	A2780 <sup>b</sup>	A2780cisR <sup>c</sup>	CH1 <sup>b</sup>	CH1cisR <sup>c</sup>	41M <sup>b</sup>	41McisR <sup>c</sup>
<b>a</b>	9,0 ± 1,0	57,0 ± 5,2	19,0 ± 1,2	15,0 ± 1,5	13,0 ± 0,9	54,0 ± 5,3
<b>b</b>	5,7 ± 1,3	8,4 ± 0,8	7,0 ± 1,7	5,7 ± 1,0	23,5 ± 2,0	1,3 ± 0,5
<b>cisplatino</b>	4,0 ± 0,4	58 ± 4,0	13,0 ± 1,3	50,0 ± 3,1	56,0 ± 3,2	128,0 ± 4,3
<b>transplatino</b>	>200	>200	>200	>200	>200	>200

<sup>a</sup> Índice de inhibición del crecimiento al 50% (GI<sub>50</sub>) ± desviación estándar. <sup>b</sup> Líneas celulares de carcinoma de ovario humano. <sup>c</sup> Líneas resistentes al *cis*-DDP.

En vista de los resultados obtenidos, se decidió ampliar el estudio a nuevos complejos con otras aminas alifáticas, y geometría *trans*. De los complejos obtenidos,<sup>95</sup> cabe destacar el *trans,trans,trans*-[PtCl<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>(ciclohexilamina)(dimetilamina)]<sup>96</sup> que ha demostrado ser más citotóxico que el cisplatino, siendo, además, más activo en las líneas celulares tumorales que en las de células primarias. Así mismo, dicho complejo provoca

la muerte celular por un mecanismo diferente al que desencadena el cisplatino, ya que el ciclo celular se detiene en la fase S en lugar de la G1 o G2/M, como provoca el cisplatino.



### 1.7. Objetivos y planteamiento del trabajo

La búsqueda de drogas antitumorales es un proceso complejo, ya que, entre otras razones, aún existe gran desconocimiento del mecanismo de acción de los fármacos utilizados en clínica. Como ejemplo tenemos el cisplatino, el cual está siendo empleado desde la década de los 70 en ensayos clínicos, aunque no se conoce con claridad su forma de actuación dentro del cuerpo y la célula. Algunas de las preguntas todavía sin respuesta de este medicamento son por qué es activo frente a unos tipos de tumores y no frente a otros, por qué las células tumorales se hacen resistentes después de repetidos tratamientos, cuáles son las razones que provocan importantes efectos secundarios, e incluso cuáles son las dianas con las que interacciona el compuesto. Si bien es cierto que las investigaciones desarrolladas en los últimos años van aportando datos de interés, aún queda mucho por conocer.

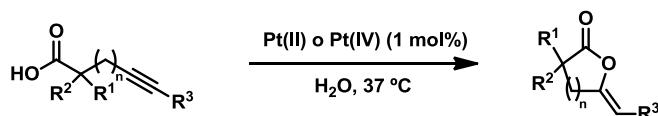
A la vista de lo expuesto anteriormente, nos planteamos como objetivos en la realización de esta Tesis Doctoral si los complejos de Pt(II) y Pt(IV) desarrollados previamente en nuestro grupo de investigación podían interaccionar con biomoléculas como los ácidos grasos insaturados que son precursores de eicosanoides,<sup>97</sup> como las prostaglandinas o leucotrienos, además de ser componentes de los fosfolípidos,<sup>98</sup>[ref] que determinan la fluidez de las membranas celulares y de manera indirecta, el comportamiento de las proteínas componentes de la mismas. Por tanto, su modificación estructural podría ser crítico para la conformación de la membrana además de impedir la síntesis de los eicosanoides, por reconocimiento de los ácidos grasos por parte de las enzimas involucradas en dichos procesos (Capítulos 2-4). Por otra parte, dentro de la búsqueda de compuestos con estructuras “no convencionales” planteamos la síntesis de nuevos complejos de Pt(II) y Pt(IV) con sulfonamidas como ligandos y su estudio citotóxico. La razón por la que escogimos estos ligandos fue que en la bibliografía no había precedentes de complejos de *trans*-Pt con sulfonamidas y que estos ligandos podrían dar lugar a compuestos variados seleccionando adecuadamente el sustituyente de la sulfonamida (Capítulos 5 y 6).

Los estudios realizados se recogen en los siguientes apartados:

#### ***1.7.1. Complejos antitumorales como catalizadores en medio acuoso (Capítulo 2)***

En este capítulo se mostrará cómo distintos compuestos antitumorales de Pt(II) y (IV), con geometría tanto *cis* como *trans*, son unos catalizadores extremadamente eficaces para la ciclación de alquino-ácidos a enol-lactonas. Por tanto, se demostrará que

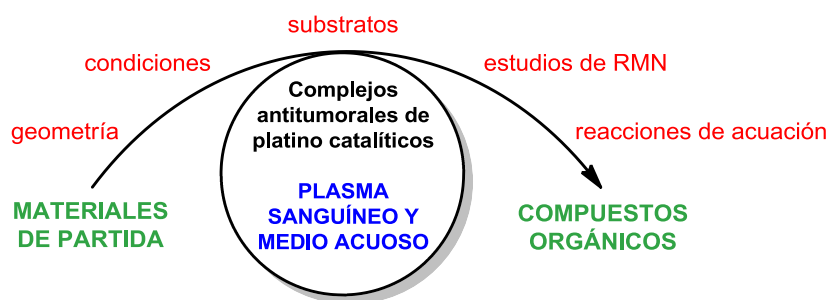
estos compuestos no sólo interaccionan con ADN sino que también pueden catalizar reacciones en acetona, metanol, agua o, incluso, plasma sanguíneo.



*Chem. Commun.* **2010**, 46, 454-456

### 1.7.2. Estudios mecanísticos de los complejos antitumorales como catalizadores en medio acuoso (Capítulo 3)

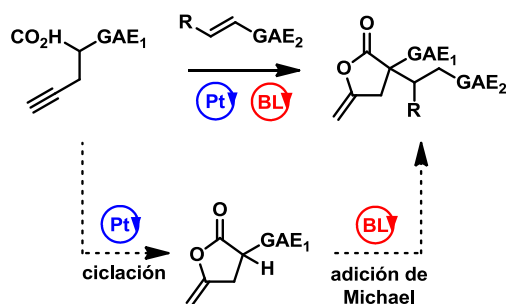
Se analizará con más detalle el mecanismo de la reacción de ciclación de alquino-ácidos y se describirá cómo reaccionan con otros sustratos orgánicos, como por ejemplo, alquenos. También se analizará la transformación de distintas biomoléculas que contengan en su estructura doble enlaces susceptibles de interaccionar con los complejos de platino.



*Dalton Trans.* **2010**, 39, 10601-10607

### 1.7.3. Aplicación sintética de los complejos de platino como catalizadores en reacciones tipo tándem (Capítulo 4)

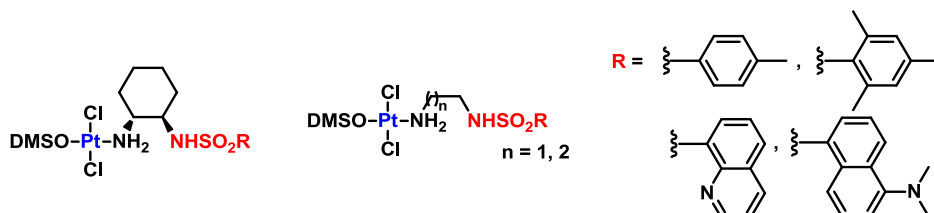
En esta parte de la memoria se estudiará la compatibilidad en el uso de este tipo de complejos metálicos de Pt(II) con organocatalizadores como el DABCO o el catalizador de Jørgensen–Hayashi en reacciones tipo tándem.



*J. Org. Chem.* **2011**, 76, 7287-7293

#### 1.7.4. Síntesis y evaluación biológica de nuevos complejos *trans* de platino(II) con ligandos sulfonamida (Capítulo 5)

En este capítulo se abordará la síntesis de complejos *trans* de platino(II) con ligandos sulfonamida. Además, se estudiarán sus citotoxicidades y se analizará la relación de su estructura-actividad (SAR).

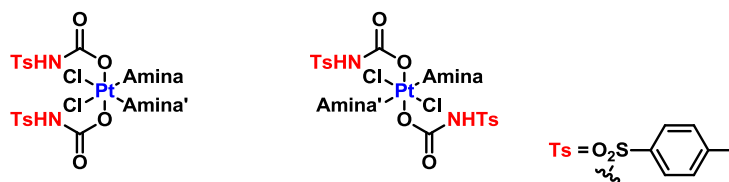


*Med. Chem. Comm.* **2011**, 2, 789-793

*J. Inorg. Biochem.* **2012**, enviado

#### 1.7.5. Síntesis y determinación de la citotoxicidad de nuevos complejos de platino(IV) con grupos tosilcarbamato (Capítulo 6)

Finalmente, en el último capítulo se describirá la obtención de complejos de platino(IV) con el sustituyente tosilcarbamato en las posiciones apicales. Por otro lado, para conocer el papel que ejerce el sustituyente en el pro-fármaco se procederá a la evaluación de distintos ensayos biológicos y químicos.



Datos sin publicar

**1.8. Bibliografía**

- 1 Gielen, M. y Tiekink, E. R. T. *Metallotherapeutic Drugs and Metal-Based Diagnostic Agents: The Use of Metals in Medicine* **2005**, publicado por John Wiley & Sons, Inc., ISBN: 0-470-86403-6.
- 2 (a) Jones, A. W. *Perspectives in Drug Discovery. A Collection of Essays on the History and Development of Pharmaceutical Substances* **2010**, RMV-report 2010:1, ISSN 1103-7660. (b) MacCoss, M. y Baillie, T. A. *Drug Discovery* **2004**, 303, 1810-1813.
- 3 Rosenberg, B.; Van Camp, L. y Krigas, T. *Nature* **1965**, 205, 698-699.
- 4 Walker, M. y Shah, H. *Everything You Should Know about Chelation Therapy* **1997**, publicado por Keats Publishing Inc., ISBN: 0-879-83730-6.
- 5 Carrió, I.; González, P.; Estorch, M.; Canessa, J.; Mitjavila, M. y Massardo, T. *Medicina Nuclear: Aplicaciones Clínicas* **2003**, publicado por Elsevier Masson, ISBN: 84-458-1291-2.
- 6 (a) Abrams, M. J.; Davison, A.; Jones, A. G.; Costello, C. E. y Pang, H. *Inorg. Chem.* **1983**, 22, 2798-2800. (b) Para más información, véase: <http://www.drugs.com/pro/cardiolute.html>
- 7 (a) Kean, W. F.; Hart, L. y Buchanan, W. W. *Br. J. Rheumatol.* **1997**, 36, 560-572. (b) Más información en: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/druginfo/meds/a685038.html>
- 8 Para más información véase: <http://www.vademecum.es/principios-activos-ioduro+sodico+%28131+i%29-v10xa01>
- 9 Szpunar, J. *Analyst* **2005**, 130, 442-465.
- 10 Mounicou, S y Lobinski, R. *Pure Appl. Chem.* **2008**, 80, 2565-2575.
- 11 Cabanes, A.; Vidal, E.; Aragonés, N.; Pérez-Gómez, B.; Pollán, M.; Lope, V. y López-Abente, G. *Annals of Oncology* **2010**, 21, iii14-iii20.
- 12 (a) Komeda, S. y Casini, A. *Curr. Top. Med. Chem.* **2012**, 12, 219-235. (b) Caraglia, M.; Marra, M.; Misso, G.; Lamberti, M.; Salzano, G.; De Rosa, G. y Abbruzzese, A. *Curr. Drug Metab.* **2012**, 13, 4-21. (c) Galluzzi, L.; Senovilla, L.; Zitvogel, L. y Kroemer, G. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2012**, 11, 215-233.
- 13 Hannahan, D. y Weinberg, R. A. *Cell* **2000**, 100, 57-70.
- 14 Hannahan, D. y Weinberg, R. A. *Cell* **2011**, 144, 646-674.
- 15 Para Rb, véase: (a) Manning, A. L. y Dyson, N. J. *Nat. Rev. Cancer* **2012**, 12, 220-226. Para p53, véase: (b) Sullivan, K. D.; Gallant-Behm, C. L.; Henry, R. E.;

- Fraikin, J-L. y Espinosa J. M. B. B. A.- *Reviews on Cancer* **2012**, 1825, 229-244. (c) Harris, C. C. *J. Natl. Cancer Inst.* **1996**, 88, 1442-1455.
- 16 Thorat, R. M.; Gaikwad, D. D.; Jadhav, S. L. y Kokate, S. T. *Int. J. Pharm. Chem. Sci.* **2012**, Vol. 1, 570-583.
  - 17 Gazdar, A. F. *Anticancer Res.* **1994**, 14 (1B), 261-267.
  - 18 Hurley, L. H. *Nat. Rev. Cancer* **2002**, 2, 188-200.
  - 19 Kaye, S. B. *Br. J. Cancer* **1998**, 78, 1-7.
  - 20 Miller, M. L. y Ojima, I. *The Chemical Record* **2001**, vol. 1, 195-211.
  - 21 Hostetter, A. A.; Miranda, M. L.; DeRose, V. J.; McFarlane Holman, K. L. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2011**, 16, 1177-1185.
  - 22 <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01419691?term=AURANOFIN&rank=1>
  - 23 Acton, Q. A. *Melanomas: New Insights for the Healthcare Professional* **2011** publicado por Scholarly Editions, ISBN: 978-1-464-90022-8.
  - 24 Peyrone, M. *Ann. Chem. Pharm.* **1844**, 51, 1-29. Traducido al inglés por Dr. Sheridan Muspratt en: *Action of Ammonia upon the Protochloride of Platinum*, *Med. Times* **1844**, 10, 381.
  - 25 (a) Kauffman, G. B. *Alfred Werner: Founder of Coordination Chemistry* **1966**, publicado por Springer-Verlag, ISBN: 3-54-003577-X. (b) Werner, A. Z. *Anorg. Chem.* **1893**, 3, 267. Traducido al inglés por Kauffman, G. B. en: *Classics in Coordination Chemistry, Part I: The Selected Papers of Alfred Werner* **1968** en *Classics of Science, Volume 4*, pp. 5-88, publicado por Dover Publications, New Ed. Edition, ISBN: 0-486-61870-6.
  - 26 (a) Higby, D. J.; Wallace, H. J.; Jr. Albert, D. J. y Holland J. F. *Cancer* **1974**, 33, 1219-1225. (b) Lippman, A. J.; Helson, C.; Helson, L. y Krakoff, I. H. *Cancer Chemother. Rep.* **1973**, 57, 191-200.
  - 27 Aprobado el 19 de Diciembre de 1978, para más información véase la página web de la FDA,  
<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda/index.cfm?fuseaction=Search.DrugDetails>
  - 28 La EMEA ha aprobado tanto el uso del cisplatino como de carboplatino pero acompañados por otros medicamentos o excipientes que disminuyan sus efectos adversos.
  - 29 dos Santos, N. A. G.; Carvalho Rodrigues, M. A.; Martins, N. M. y dos Santos, A. C. *Arch. Toxicol.* **2012**, 86, 1233-1250.
  - 30 Gutiérrez-Gutiérrez, G.; Sereno, M.; Miralles, A.; Casado-Sáenz, E. y Gutiérrez-Rivas E. *Clin. Transl. Oncol.* **2010**, 12, 81-91.

- 
- 31 (a) Forastiere, A. A. *Semin Oncol.* **1994**, 21, 20-27. (b) Ozols, R. F. *Ann. Oncol.* **1994**, 6, S39-S43. (c) Skarlos D. V. *et col. Ann. Oncol.* **1994**, 5, 601-607. (d) Viren, M. *et col. Acta Oncol.* **1994**, 33, 921-924.
- 32 Schmitt, A. *et col. J. Clin. Oncol.* **2010**, 28, 4568-4574.
- 33 (a) Stordal, B. K.; Davey, M. W. y Davey, R. A. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2006**, 58, 256-265. (b) Arnould, S.; Hennebelle, I.; Canal, P.; Bugat, R. y Guichard, S. *Eur. J. Cancer.* **2003**, 39, 112-119. (c) Videhult, P.; Yachnin, J.; Jerremalm, E.; Lewensohn, R. y Ehrsson, H. *Cancer Lett.* **2002**, 180, 191-194
- 34 Krishnan, A. V.; Goldstein, D.; Friedlander, M. y Kiernan, M. C. *Muscle Nerve.* **2005**, 32, 51-60.
- 35 Sato, S.; Fujiwara, H.; Oishi, T.; Shimada, M.; Machida, S.; Takei, Y.; Itamochi, H.; Suzuki, M. y Kigawa J. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2012**, 69, 599-603.
- 36 Alessio, E. *Bioinorganic Medicinal Chemistry* **2011**, publicado por Wiley-VCH Verlag, ISBN: 3-527-32631-6.
- 37 Arnesano, F. y Natile, G. *Coord. Chem. Rev.* **2009**, 253, 2070-2081.
- 38 Gale, G. R.; Morris, C. R.; Atkins, L. M. y Smith, A. B. *Cancer Res.* **1973**, 33, 813-817. (b) Hromas, R. A.; North, J. A. y Burns, C. P. *Cancer Lett.* **1987**, 36, 197-201. (c) Binks, S. P. y Dobrota, M. *Biochem. Pharmacol.* **1990**, 40, 1329-1336.
- 39 Byfield, J. E. y Calabro-Jones, P. M. *Nature* **1981**, 294, 281-283.
- 40 Andrews, P. A.; Mann, S. C.; Huynh, H. H. y Albright, K. D. *Cancer Res.* **1991**, 51, 3677-3681.
- 41 Hall, M. D.; Okabe, M.; Shen, D-W.; Liang, X-J. y Gottesman, M. M. *Ann. Rev. Pharm. Tox.* **2008**, 48, 495-535.
- 42 Safaei, R. y Howell, S. B. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **2005**, 53, 13-23.
- 43 (a) Arnesano, F. y Natile, G. *Pure Appl. Chem.* **2008**, 80, 2715-2725. (b) Arnesano, F.; Scintilla, S. y Natile, G. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 9062-9064.
- 44 (a) Lin, X.; Okuda, T.; Holzer, A. y Howell, S. B. *Mol. Pharmacol.* **2002**, 62, 1154-1159. (b) Safaei, R. y Howell, S. B. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **2005**, 53, 13-23. (c) Safaei, R. *Cancer Lett.* **2006**, 234, 34-39.
- 45 Holzer, A. K. G.; Manorek, H. y Howell, S. B. *Mol. Pharmacol.* **2006**, 70, 1390-1394.
- 46 Blair, B. G.; Larson, C.; Safaei, R. y Howell, S. B. *Clin. Cancer Res.* **2009**, 15, 4312-4321.
- 47 Mistry, P.; Kelland, R. L.; Loh, S. Y.; Abel, G.; Murrer, B. A. y Harrap, K. R. *Cancer Res.* **1992**, 52, 6188-6193.

- 
- 48 Lippard, S. J. y Berg, J. M. *Principles of Bioinorganic Chemistry* **1994**, publicado por University Science Books, ISBN: 0-935-70272-5.
- 49 Yu, F.; Megyesi, J. y Price, P. M. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* **2008**, 295, F44-F52.
- 50 Fisher, D. E. *Cell* **1994**, 78, 539-542.
- 51 (a) Sheikh-Hamad, D. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* **2008**, 295, F42-F43. (b) véase referencia 49.
- 52 (a) González, V. M.; Fuertes, M. A.; Alonso, C. y Pérez, J. M. *Mol. Pharmacol.* **2001**, 59, 657-663. (b) Jamieson, E. R. y Lippard, S. J. *Chem. Rev.* **1999**, 99, 2467-2498.
- 53 Pérez, R. P. *Eur. J. Cancer* **1998**, 34, 1535-1542.
- 54 Wang, F.; Ogasawara, M. A. y Huang, P. *Mol. Aspects Med.* **2010**, 31, 75-92.
- 55 Crul, M.; van Waardenburg, R. C. A. M.; Beijnen, J. H. y Schellens J. H. M. *Cancer Treat. Rev.* **2002**, 28, 291-303.
- 56 Payet, D.; Gaucheron, F.; Sip, M. y Leng, M. *Nucleic Acids Res.* **1993**, 21, 5846-5851.
- 57 Chaney, S. G.; Campbell, S. L.; Temple, B.; Bassett, E.; Wu, Y. y Faldu, M. J. *Inorg. Biochem.* **2004**, 98, 1551-1559.
- 58 Yang, X-L. y Wang, A. H-J. *Pharmacol. Ther.* **1999**, 83, 181-215.
- 59 Postel-Vinay, S.; Vanhecke, E.; Olausson, K. E.; Lord, C. J.; Ashworth, A. y Soria J-C. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* **2012**, 9, 144-155.
- 60 Hall, M. D. y Hambley, T. W. *Coord. Chem. Rev.* **2002**, 232, 49-67.
- 61 Dhar, S. y Lippard, S. J. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2009**, 106, 22199-22204.
- 62 Ellis, L. T.; Er, H. M. y Hambley, T. W. *Aust. J. Chem.* **1995**, 48, 793-806.
- 63 Platts, J. A.; Ermondi, G.; Caron, G.; Ravera, M.; Gabano, E.; Gaviglio, L.; Pelosi, G. y Osella, D. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2011**, 16, 361-372.
- 64 Kido, Y.; Khokhar, A. R. y Siddik, Z. H. *Biochem. Pharmacol.* **1994**, 7, 1635-1642.
- 65 Hong, R.; Han, G.; Fernández, J. M.; Kim, B-j.; Forbes, N. S. y Rotello, V. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 1078-1079.
- 66 Hall, M. D.; Mellor, H. R.; Callaghan, R. y Hambley, T. W. *J. Med. Chem.* **2007**, 50, 3403-3411.
- 67 Choi, S. *et col. Inorg. Chem.* **1998**, 37, 2500-2504.
- 68 Kratochwil, N. A.; Parkinson, J. A.; Bednarski, P. J. y Sadler, P. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 1460-1494.
- 69 Müller, P.; Schröder, B.; Parkinson, J. A.; Kratochwil, N. A.; Coxall, A.; Parkin, A.; Parsons, S. y Sadler, P. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 335-339.

- 
- 70 Kelland, L. R.; Murrer, B. A.; Abel, G.; Giandomenico, C. M.; Mistry, P. y Harrap, K. R. *Cancer Res.* **1992**, 52, 822-828.
- 71 (a) Farrell, N. *Cancer Invest.* **1993**, 11, 578-589. (b) Pérez, J. M.; Fuertes, M. A.; Alonso, C. y Navarro-Ranninger, C. *Critical Rev. Oncol/ Hematol.* **2000**, 35, 109-120.
- 72 Farrell, N.; Ha, T. T. B.; Souchart, J. P.; Wimmer, F. L.; Cros, S. y Johnson, N. P. *J. Med. Chem.* **1989**, 32, 2240-2241.
- 73 Van Beusichem, M. y Farrell, N. *Inorg. Chem.* **1992**, 31, 634-639.
- 74 Bierbach, U.; Qu, Y.; Hamblet, T.W.; Peroutka, J.; Nguyen, H. L.; Doedee, M. y Farrell, N. *Inorg. Chem.* **1999**, 38, 3535-3542.
- 75 (a) Zou, Y.; Van Houten, B. y Farrell N. *Biochemistry* **1993**, 32, 9632-9638. (b) Kakovska, A.; Novakova, O.; Balcarova, Z.; Bierbach, U; Farrell, N. y Brabec, V. *Eur. J. Biochem.* **1998**, 254, 547-557.
- 76 Brabec, V.; Nepelchova, K.; Kasparkova, J. y Farrell, N. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2000**, 5, 364-368.
- 77 Leng, M.; Locker, D.; Giraud-Panis, M-J.; Schwartz, A.; Intini, F. P.; Natile, G.; Pisano, C.; Boccarelli, A.; Giordano, D. y Coluccia, M. *Mol. Pharmacol.* **2000**, 58, 1525-1535.
- 78 (a) Coluccia, M.; Nassi, A.; Loseto, F.; Boccarelli, A.; Mariglio, M. A.; Giordano, D.; Intitni, F. P.; Caputo, P. y Natile, G. *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 510-512. (b) Coluccia, M.; Boccarelli, A.; Mariggio, M. A.; Cardellicchio, N.; Caputo, P.; Intini, F. P. y Natile, G. *Chem. Biol. Interact.* **1995**, 98, 251-266. (c) Coluccia, M.; Nassi, A.; Boccarelli, A.; Giordano, D.; Carddellicchio, N.; Locker, D.; Leng, M.; Sivo, M.; Intitni, F. P. y Natile, G *J. Inorg. Biochem.* **1999**, 77, 31-35.
- 79 Novakova, O.; Kasparkova, J.; Malina, J.; Natile, G. y Brabec, V. *Nucleic Acids Res.* **2003**, 31, 6450-6460.
- 80 Leng, M.; Locker, D.; Giraud-Panis, M-J.; Schwartz, A.; Intini, F. P.; Natile, G.; Pisano, C.; Boccarelli, A.; Giordano, D. y Coluccia, M. *Mol. Pharmacol.* **2000**, 58, 1525-1535.
- 81 Gómez Quiroga, A. y Navarro Ranninger, C. *Coord. Chem. Rev.* **2004**, 248, 119-133.
- 82 Quiroga, A. G. *J. Inorg. Biochem.* **2012**, 114, 106-112.
- 83 Montero, E. I.; Diaz, S.; Gonzalez-Vadillo, A. M.; Perez, J. M.; Alonso, C. y Navarro-Ranninger, C. *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 4264-4268.
- 84 Pantoja, E.; Álvarez-Valdés, A.; Pérez, J. M.; Navarro-Ranninger, C. y Reedijk, J. *Inorg. Chim. Acta* **2002**, 339, 525-531.



- 
- 85 Ramos-Lima, F. J.; Quiroga, A. G.; García-Serrelde, B.; Blanco, F.; Carnero, A. y Navarro-Ranninger, C. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 2194-2199.
- 86 (a) Messori, L.; Casini, A.; Gabbiani, C.; Michelucci, E.; Cubo, L.; Ríos-Luci, C.; Padrón, J. M.; Navarro-Ranninger, C. y Quiroga, A. G. *Med. Chem. Lett.* **2010**, *1*, 381-385. (b) Messori, L. *et col. Inorg. Chem.* **2012**, *51*, 1717-1726.
- 87 Ho, Y.-P.; Au-Yeung, S. C. F. y To, K. K. W. *Med. Res. Rev.* **2003**, *23*, 633-655.
- 88 Drougge, L. y Elding, L. I. *Inorg. Chim. Acta*, **1986**, *121*, 175-183.
- 89 Kelland, L. R.; Barnard, C. F. J.; Mellish, K. J.; Jones, M.; Goddard, P. M.; Valenti, M.; Bryant, A.; Murrer, B. A. y Harrap, K. R. *Cancer Res.* **1994**, *54*, 5618-5622.
- 90 Pérez, J. M.; Camazón, M.; Álvarez-Valdes, A.; Quiroga, A. G.; Kelland, L. R.; Alonso, C. y Navarro-Ranninger, M. C. *Chem. Biol. Interact.* **1999**, *117*, 99-115.
- 91 Giandomenico, C. M.; Abrams, M. J.; Murrer, B. A.; Vollano, J. F.; Rheinheimer, M. I.; Wyer, S. B.; Bossard, G. E. y Higgins, J. D. *Inorg. Chem.* **1995**, *34*, 1015-1021.
- 92 Wilson, J. J. y Lippard, S. J. *Inorg. Chem.* **2011**, *50*, 3103-3115.
- 93 Montero, E. I.; Pérez, J. M.; Schwartz, A.; Fuertes, M. A.; Malinge, J. M.; Alonso, C.; Leng, M. y Navarro-Ranninger, C. *ChemBioChem.* **2002**, *3*, 61-67.
- 94 Pérez, J. M.; Kelland, L. R.; Montero, E. I.; Boxall, F. E.; Fuertes, M. A.; Alonso, C. y Navarro-Ranninger, C. *Mol. Pharmacol.* **2003**, *63*, 933-944.
- 95 (a) Cubo, L.; Hambley, T. W.; Sanz Miguel, P. J.; Carnero, A.; Navarro-Ranninger, C. y Quiroga, A. G. *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 344-347. (b) González-Vadillo, A. M.; Álvarez-Valdés, A.; Moneo, V.; Blanco, F.; Díaz, R. G.; Carnero, A. y Navarro-Ranninger, C. *J. Inorg. Biochem.* **2007**, *101*, 551-558.
- 96 Navarro Ranninger, C. y González Vadillo, A. M. *Compuestos trans de platino (IV) de fórmula trans,trans,trans-[PtCl<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>(amina)(dimetilamina)] con actividad antitumoral* 1 de Septiembre del **2004**, patente ES 2214138.
- 97 (a) Lands, W. E.; Libelt, B.; Morris, A.; Kramer, N. C.; Prewitt, T. E.; Bowen, P.; Schmeisser, D.; Davidson, M. H. y Burns, J. H. *Biochim. Biophys. Acta* **1992**, *1180*, 147-162. (b) von Schacky, C.; Fischer, S. y Weber, P. C. *J. Clin. Invest.* **1985**, *76*, 1626-1631.
- 98 (a) Connor, W. E. *Am. J. Clin. Nutr.* **2000**, *71*, 171S-175S. (b) Sklar, L. A.; Hudson, B. S. y Simoni, R. D. *Biochemistry* 1977, *16*, 819-828. (c) Dodge, J. T. y Phillips, G. B. *Lipid Res.* **1967**, *8*, 667-675.



## **CAPÍTULO 2**

*Complejos Antitumorales como Catalizadores en  
Medio Acuoso*



## 2.1. Objetivos

Uno de los objetivos de esta Tesis Doctoral es ampliar el conocimiento del mecanismo de acción del cisplatino y otros fármacos con platino, y contribuir a tratar de explicar el porqué de los efectos secundarios que provocan los complejos antitumorales de platino.

En nuestro organismo están presentes gran número de biomoléculas capaces de interaccionar con el platino. De entre ellas, decidimos comenzar nuestro trabajo centrándonos en los ácidos grasos insaturados que pueden presentar cadenas carbonadas tanto cortas como largas, dado que no había ningún precedente descrito en la bibliografía.

Los ácidos grasos insaturados constituyen una amplia familia de biomoléculas cuya estructura básica consta de una cadena hidrocarbonada lineal limitada en un extremo por un metilo y en el otro por un ácido carboxílico, la cual contiene uno o más dobles enlaces en geometría *Z* o *E* que determina sus propiedades físico-químicas. Las tres familias de ácidos grasos insaturados más importantes, denominadas en función de la posición de esta insaturación, son:

- Omega 3. Ácidos grasos derivados del ácido  $\alpha$ -linolénico (ALA, 18:3, n-3)
- Omega 6. Ácidos grasos derivados del ácido linoleico (LA, 18:2, n-6)
- Omega 9. Ácidos grasos derivados del ácido oleico (OA, 18:1, n-9)

Además de las funciones desempeñadas por estos compuestos por sí mismos, son precursores de moléculas importantes con actividades biológicas (hormonas, prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos, etc...).<sup>99</sup> Además, los ácidos grasos insaturados tienen una función primordial<sup>100</sup> como componentes de los fosfolípidos, determinando la fluidez de las membranas celulares y de manera indirecta el comportamiento de las proteínas (enzimas y receptores) asociadas a ella, y también son necesarios para el buen funcionamiento del sistema inmune, la correcta formación de la retina y el funcionamiento de las neuronas y las transmisiones químicas.<sup>101</sup> Por tanto, cualquier variación en su estructura podría provocar importantes consecuencias como la modificación de las propiedades de la membrana celular o la falta de reconocimiento de las enzimas involucradas en la transformación de los ácidos grasos en eicosanoides como prostaglandinas, tromboxanos o leucotrienos (figura 15).

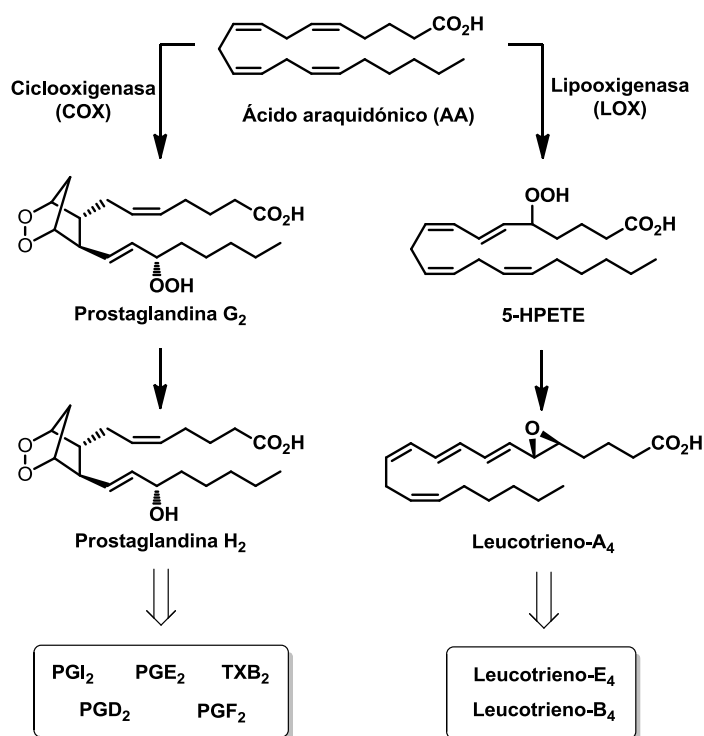


Figura 15

Los ácidos grasos pertenecientes a la familia de los omega-3 son ácidos grasos esenciales, y como ejemplos más característicos están el ácido eicosapentanoico (EPA, **a** figura 16) y el ácido docosahexaenoico (DHA, **b** figura 16). Algunas de las propiedades de estos ácidos son:

- **Antiinflamatorias:**<sup>102</sup> Se ha demostrado en modelos murinos y en estudios clínicos que la ingesta de ácidos  $\omega$ -3 en la dieta es beneficiosa para combatir efectos inflamatorios en distintas enfermedades como la psoriasis o la artritis reumatoide.
- **Neuroprotectoras:**<sup>103</sup> Estudios epidemiológicos indican que dietas ricas en DHA están asociadas con una reducción en el riesgo de padecer una discapacidad cognitiva.<sup>104</sup> Ciertas dietas como la vegana y vegetariana presentan niveles bajos de DHA,<sup>105</sup> con el consiguiente riesgo de alterar la fluidez de la membrana de las neuronas y su estímulo nervioso.
- **Cardioprotectoras:**<sup>106</sup> En estudios clínicos aleatorios de enfermos coronarios se ha encontrado que los suplementos alimenticios de ácidos grasos  $\omega$ -3 reducen, significativamente, los ataques al corazón, los derrames cerebrales e incluso la

muerte. Además, los pacientes que tomaban dichos suplementos presentaban una disminución en la progresión de aterosclerosis.

En la familia de los ácidos grasos esenciales omega-6, podemos encontrar al ácido linoleico (LA, **c** figura 16) y al ácido araquidónico (AA, **d** figura 16). Al igual que los omega-3 son también cardioprotectores<sup>107</sup> y neuroprotectores.<sup>108</sup> Como contrapartida, la mayoría de los estudios indican que los derivados del AA (**d**) como prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos tienen un efecto proinflamatorio,<sup>109</sup> aunque algunos más recientes indican que presentan una dualidad en esta propiedad.<sup>110</sup> Por último, el ácido oleico (**e**) es conocido por sus efectos beneficiosos sobre la salud cardiovascular<sup>111</sup> y hepática<sup>112</sup> y, además, presenta propiedades anti-inflamatorias, como los anteriores lípidos.<sup>113</sup>

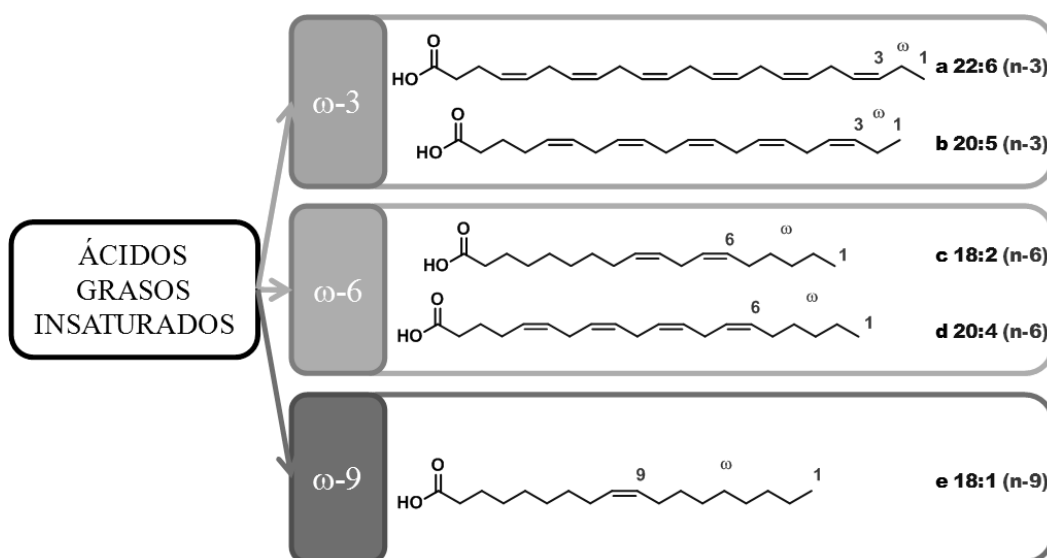


Figura 16

Adicionalmente, análogos con una insaturación de triple enlace (**f**, figura 17) han sido utilizados como inhibidores en la biosíntesis de leucotrienos.<sup>114</sup>

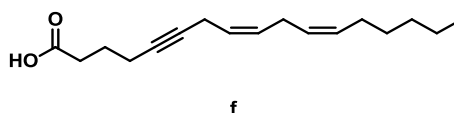


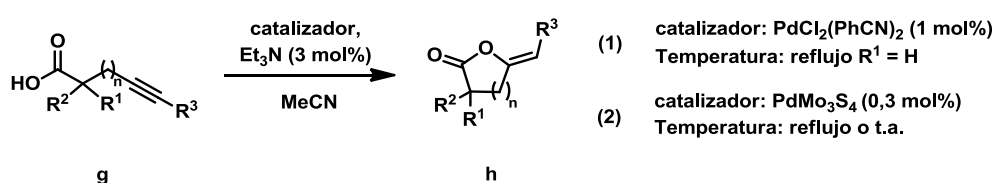
Figura 17

## 2.2. Antecedentes: Catálisis metálica en reacciones de ciclación

Dada la importancia que presentan los ácidos grasos insaturados pensamos en la posibilidad de que los complejos de platino, empleados como antitumorales, modificaran estos compuestos y, por lo tanto, el organismo podría sufrir una serie de trastornos debido a dichas acciones. Por ello, decidimos estudiar la interacción de estas biomoléculas con los compuestos antitumorales de platino preparados previamente en nuestro grupo de investigación con una reacción modelo.

En base a los datos recogidos en la bibliografía, elegimos, como modelo de reacción, la ciclación del ácido 4-pentinoico para la obtención de la 5-metilendihidrofuran-2-ona. Industrialmente, este proceso catalítico es particularmente útil para la preparación de productos farmacéuticos, sabores y fragancias.<sup>115</sup> Esta reacción se encuentra descrita en disolventes orgánicos y con complejos metálicos, siendo los más estudiados los de paladio, plata y mercurio, en menor medida de rodio, rutenio y cobre, y más recientemente bismuto y oro. A continuación se detalla la reacción de ciclación de ácidos alquínlicos para dar lugar a enol lactonas con los catalizadores más relevantes que se encuentran descritos en la bibliografía:

- **Paladio:** La primera reacción para la obtención de lactonas a partir de alquínlicos catalizada por paladio(II) fue descrita en 1984 (ecuación 1, esquema 1).<sup>116</sup> En estas reacciones se empleaba como disolvente MeCN y para que se produjeran era necesaria una cantidad de 1-5 mol% de catalizador y 3 mol% de TEA, además de temperatura de reflujo. Los tiempos de reacción eran de 4 horas, y los rendimientos de moderados (41%) a excelentes (96%). Posteriormente, se descubrió el uso de un cluster de paladio ( $\text{PdMo}_3\text{S}_4$ )<sup>117</sup> como catalizador, proporcionando de buenos a excelentes rendimientos (62-99%) y tiempos de reacción de 10 horas con 0,3 mol% de catalizador y 3 mol% de TEA en acetonitrilo (ecuación 2, esquema 1).

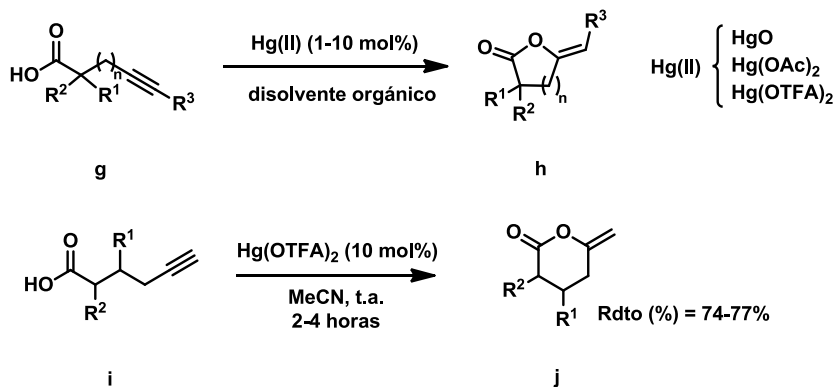


Esquema 1

- **Mercurio:** Los catalizadores basados en  $\text{Hg(II)}$  más utilizados son el óxido de mercurio, el acetato de mercurio y el trifluoroacetato de mercurio.<sup>118</sup> Las reacciones de ciclación de los ácidos alquínlicos sustituidos que catalizan estos complejos necesitan

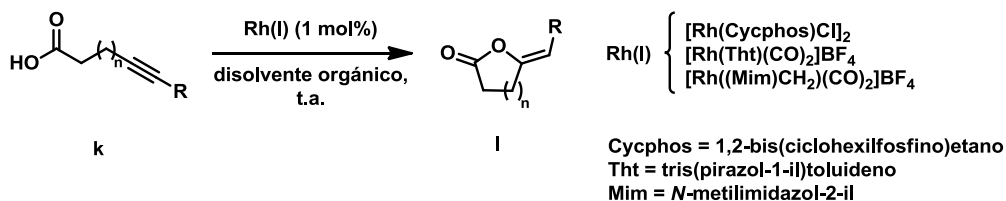


disolventes orgánicos para obtener las correspondientes enol-lactonas sustituidas y, en algunos casos, temperatura de reflujo. Además, las cantidades de catalizador suelen estar comprendidas entre el 1 mol% y el 10 mol%, el tiempo de reacción varía desde 30 minutos hasta tres días, y los rendimientos abarcan porcentajes desde moderados (40-50%) hasta excelentes (>90%) (esquema 2).



Esquema 2

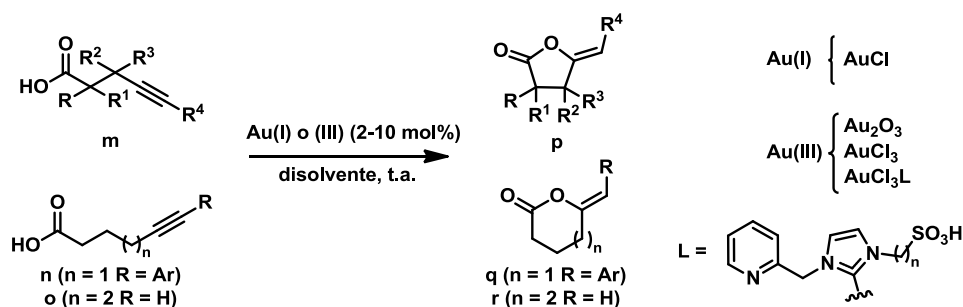
• Rodio:<sup>119</sup> La reacción de ciclación de ácidos alquínlicos necesita un disolvente orgánico y un 1 mol% de catalizador de rodio(I), empleando tiempos de reacción de 24 a 80 horas para dar lugar a enol-lactonas, cuyos rendimientos varían desde el 48% al 93% en los anillos de cinco miembros. Los ciclos de seis miembros requieren hasta 8 días para dar lugar a rendimientos de moderados (26%) a buenos (80%) (esquema 3).



Esquema 3

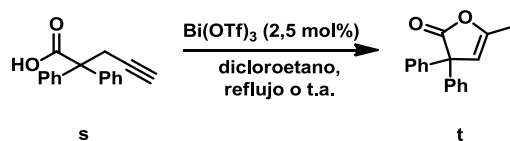
• Oro: Actualmente se están empleando como catalizadores más novedosos el oro(I) y el oro(III).<sup>120</sup> La reacción de ciclación para obtener enol-lactonas con cinco, seis y siete miembros necesita disolventes orgánicos y entre 2-10 mol% de catalizador. Los tiempos de reacción suelen ser cortos, no más de 10 horas y los rendimientos están comprendidos entre porcentajes de moderados (50%) a excelentes (>90%). En algunos

casos, para mejorar el rendimiento de los productos se emplea un 10 mol% de  $K_2CO_3$ <sup>118c,118f</sup> (esquema 4).



Esquema 4

- Bismuto: En 2008 se describió la ciclación de alquín-ácidos catalizada por bismuto(III) (esquema 5).<sup>121</sup> Se analizó la dependencia del disolvente, encontrando que la naturaleza no-polar de los solventes era necesaria para llevar a cabo las reacciones. Así pues, las condiciones de reacción óptimas son aquellas que requieren un 2,5 mol% de  $\text{Bi}(\text{OTf})_3$ , en dicloroetano y a temperatura ambiente o a 80 °C para dar lugar a las lactonas con el doble enlace intramolecular (*E*) con rendimientos de buenos (76%) a excelentes (100%) en tiempos menores a 3 horas.



Esquema 5

Sorprendentemente, no existen precedentes en la bibliografía del uso de complejos de platino como catalizadores metálicos para este tipo de ciclación intramolecular. Además, las metodologías descritas hasta el momento utilizando otro tipo de metal, o bien utilizaban cargas de catalizador altas, temperaturas de reflujo o la utilización de disolventes orgánicos. Además de la modificación de biomoléculas como prostaglandinas, la utilización de condiciones más suaves de reacción o de agua como disolvente nos llevaron al inicio del estudio de esta reacción con distintos complejos de Pt con un objetivo más sintético.

## 2.3. Optimización y alcance de la reacción

### 2.3.1. Optimización de la reacción modelo

Para conocer el alcance de la reacción en función del catalizador utilizado se realizó un barrido con distintos complejos de platino (**1a-o**, figura 18), elegidos por su geométrica (*cis*, **1b-f** y *trans*, **1a** y **1g-j**), las diferentes aminas y el estado de oxidación (complejos de platino(II), **1a-j**, y complejos de platino(IV), **1k-o**).

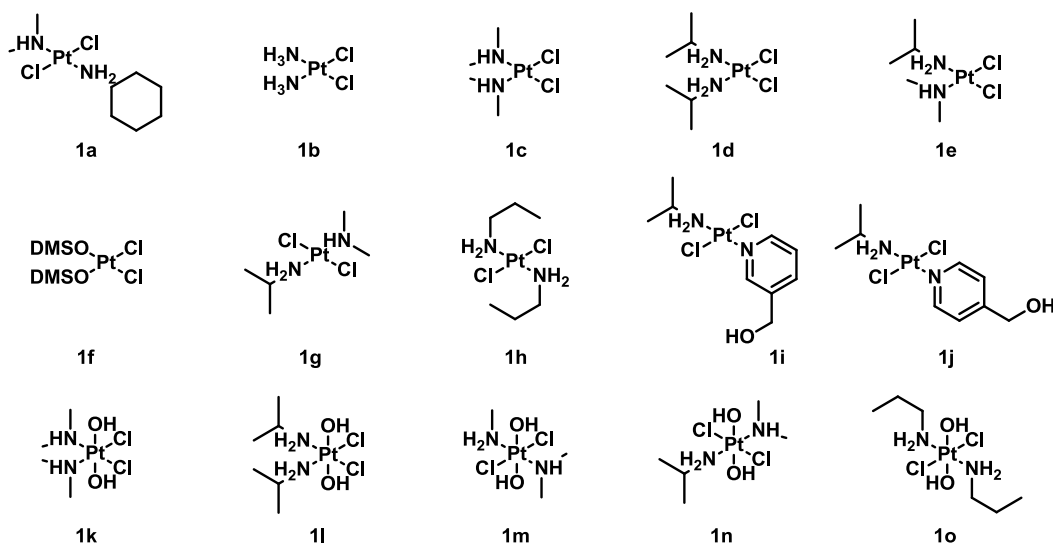
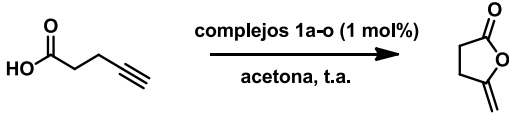


Figura 18

Inicialmente, se llevó a cabo la ciclación del ácido-4-pentenoico (**2a**) en acetona en presencia de 1 mol% de **1a** (entrada 1, tabla 4). La reacción se detuvo a las 18 horas observándose en  $^1\text{H}$  RMN dos señales representativas a 4,66 y 4,23 ppm, correspondientes a los dos protones geminales del metileno del compuesto **3a**. A pesar de estos datos positivos, la conversión de la reacción fue bastante pobre (< 5%). Interesantemente, el empleo de complejos *cis* con el Pt en estado de oxidación +2 (**1b-f**), que contienen aminas o DMSO dio lugar a una conversión total (entradas 2-6, tabla 4). Sin embargo, los complejos con geometría *trans* (**1a** y **1g-j**), con el Pt en el mismo estado de oxidación no fueron capaces, después de 18 horas, de superar un 10% de conversión empleando las mismas condiciones de reacción (entradas 1 y 7-10, tabla 4).

**Tabla 4.** Catalizadores de platino(II) y (IV) **1a-o** empleados en la reacción del alquino **2a** para obtener la enol-lactona **3a**.<sup>a</sup>

		
	<b>2a</b>	<b>3a</b>
Entrada	Complejo	Conversión (%) (Rdto en %) <sup>d</sup>
1	1a	<5
2	1b	>99 (37) <sup>b</sup>
3	1c	>99 (70) <sup>c</sup>
4	1d	>99 (53) <sup>b</sup>
5	1e	>99 (41) <sup>b</sup>
6	1f	>99 (nd) <sup>b</sup>
7	1g	9
8	1h	0
9	1i	9
10	1j	<5
11	1k	<5
12	1l	<5
13	1m	8
14	1n	42
15	1o	<5
16	1c	>99 (nd) <sup>c,d</sup>

<sup>a</sup> Todas las reacciones se detuvieron después de 18 horas. La conversión fue determinada por <sup>1</sup>H RMN. <sup>b</sup> Rendimiento del producto aislado mostrado entre paréntesis. <sup>c</sup> No determinado. <sup>d</sup> Reacción llevada a cabo con 0,1 mol% del catalizador durante 48 horas.

Actualmente, una de las temáticas más interesantes en la química del platino es la relación química-médica que hay entre los complejos con estado de oxidación (II) y (IV). Los compuestos de platino(IV) presentan menor reactividad y mayor estabilidad en comparación con los de platino(II). Por tanto, supusimos que los complejos con estado de oxidación (IV) y geometría *cis* tendrían que catalizar la reacción de ciclación en una menor conversión que sus análogos en estado de oxidación (II). Sorprendentemente, el resultado fue totalmente opuesto, los complejos *cis* de platino(IV) (**1k-l**) no fueron capaces de catalizar la reacción (entradas 11 y 12, tabla 4), mientras que de los *trans*

(**1m-o**, entradas 13-15, tabla 4) dieron desde una conversión baja (**1m**) hasta moderada (**1n**, entrada 14, tabla 4).

Con objeto de conocer la eficacia catalítica, se decidió disminuir la cantidad de catalizador empleada, obteniéndose una conversión total con el catalizador *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(dma)<sub>2</sub>] **1c** con tan sólo un 0,1% aunque requiere un tiempo de reacción más largo (48 horas, entrada 16, tabla 4).

### 2.3.2. Estudios con distintos disolventes orgánicos y acuosos a distintos pH

Una vez evaluado el catalizador, llevamos a cabo el estudio del papel que juegan los disolventes en la reacción. Así, además de emplear varios disolventes orgánicos de distinta naturaleza, también se utilizaron como disolventes agua y plasma sanguíneo. Los datos obtenidos en la reacción de **2a** para dar lugar a **3a** mediante 1 mol% del catalizador **1c** en distintos disolventes orgánicos se muestran en la figura 19. Tanto la utilización de disolventes muy apolares (tolueno,  $\epsilon < 15$ ) como muy polares (DMF o DMSO,  $\epsilon > 15$ ), dio lugar a conversiones malas o muy bajas. Interesantemente, disolventes apróticos como el diclorometano, la acetona o próticos como el metanol, con polaridades tanto moderadas como altas, daban lugar a conversiones completas (figura 19).

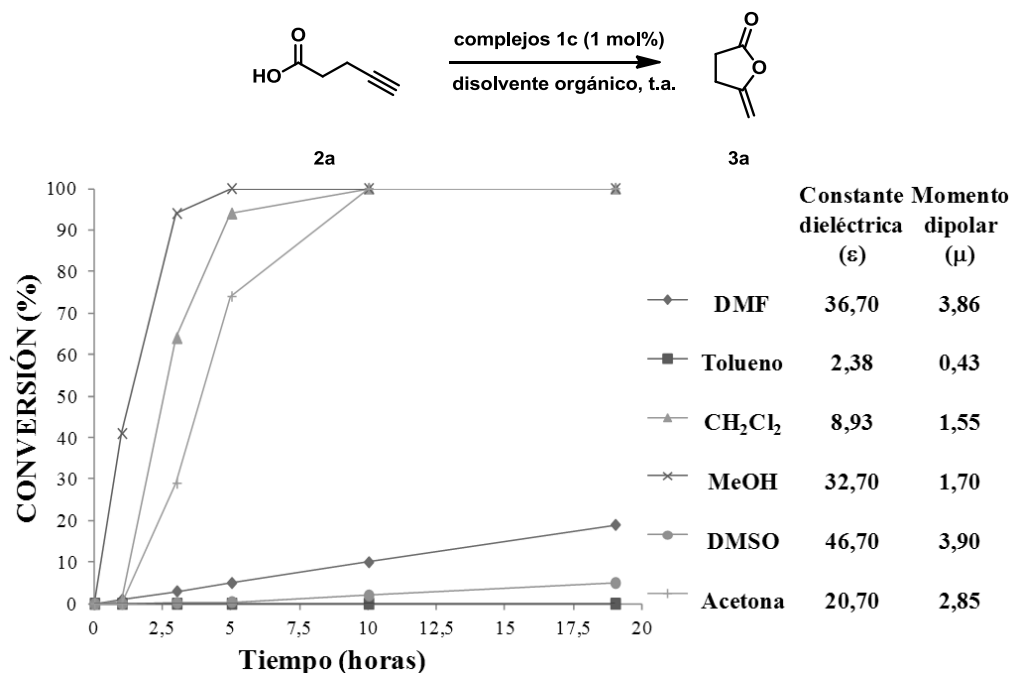


Figura 19

Ahora bien, dado que algunos de estos complejos de platino presentan actividades citotóxicas importantes era necesario llevar a cabo el estudio de los mismos en medio acuoso y condiciones fisiológicas (figura 20). Por ello, además de evaluar la reacción en agua, tuvimos en cuenta diversos factores como el pH, la existencia de capturadores (“scavengers”) de moléculas como las proteínas del plasma y la temperatura. Para establecer la influencia de estos factores se llevó a cabo la reacción con el cisplatino **1b** y el complejo **1c** en agua, a temperatura ambiente, obteniéndose casi conversión total a las 3 horas (figura 20).

Considerando estos factores podemos concluir que:

- pH: El pH tiene una influencia notable en la reacción. Tanto a pH ácido como básico, después de tres horas la conversión con el complejo **1c** era menor que a pH neutro, siendo el porcentaje 6% y 23% en pH 3 (estómago) y pH 8 (colon), respectivamente. La conversión total se observa en ambos casos a las 10 horas.
- Capturadores: Al utilizar plasma como disolvente se obtuvo un descenso en la conversión, posiblemente debido a que las proteínas reaccionan con el complejo **1c** produciendo aductos platino-proteína y, en consecuencia, disminuyendo la concentración del catalizador activo en el medio de reacción.
- Temperatura: El complejo *trans* de platino(II) **1h** que no daba reacción a temperatura ambiente (véase entrada 8, tabla 5) a 37 °C (temperatura fisiológica) produce una conversión del 40%, indicando de esta forma la importancia de la temperatura en este tipo de transformaciones.

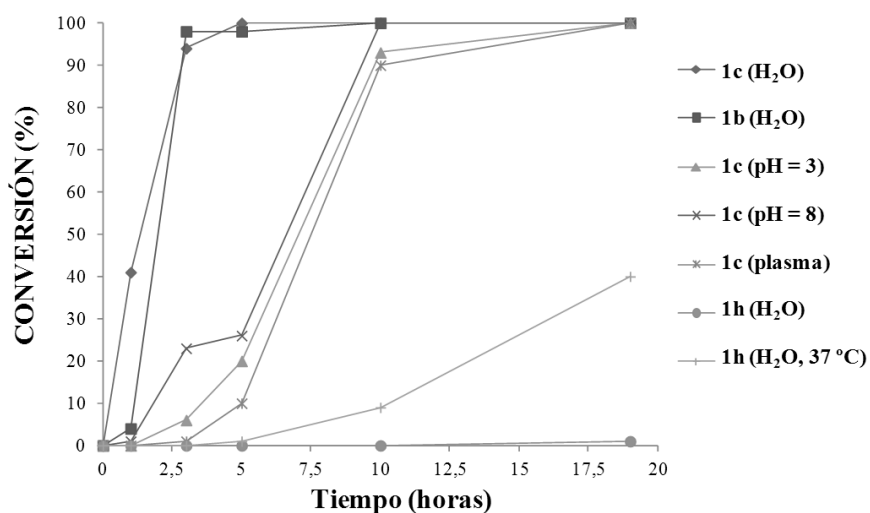
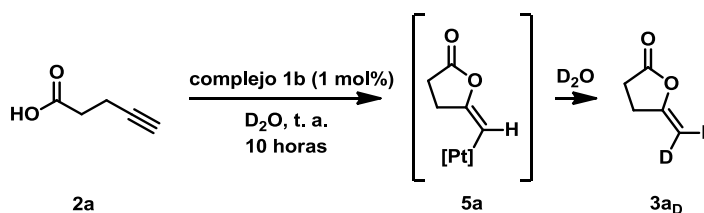


Figura 20

### 2.3.3. Alcance de la reacción

Posteriormente, se llevó a cabo el estudio de la reacción con diferentes alquín-ácidos **2a-i** utilizando como catalizador **1c** al 1 mol% en agua y a temperatura ambiente. Como se puede observar en la tabla 5, a medida que se incrementa el número de miembros en el anillo de la lactona, la reactividad de la reacción disminuye (entradas 1-3, tabla 5). Así, incluso en condiciones óptimas (disolvente, tiempo de reacción) los rendimientos conseguidos son moderados (**3b**, tabla 5), o en el caso de la reacción de ciclación del anillo de siete miembros, éste no se produjo, incluso después de 24 horas, a temperatura ambiente y a 37 °C (**3c**, tabla 5). La reacción también admite otros sustituyentes diferentes al hidrógeno en la posición en  $\alpha$  al ácido carboxílico como, por ejemplo, ésteres (**3d-f** y **3h/h'-i/i'**, tabla 5), grupos alilo (**3e**, tabla 5) y grupos propargilo (**3f-g**, tabla 5), obteniéndose en todos los casos los productos (**3d-i/i'**) con rendimientos de moderados a buenos. Curiosamente, si el sustituyente es otro ácido carboxílico (**2g**) se produce una reacción tandem dando lugar al compuesto doble espiro-lactona **3g** con buenos rendimientos (entrada 7, tabla 5). En las entradas 8 y 9 de la tabla 5, se muestra la influencia de la sustitución en el triple enlace. Cuando en el alquino hay un grupo metilo en lugar del protón acetilénico (**2h**), se obtiene una mezcla 3:1 de un anillo de cinco y otro de seis miembros (**3h/3h'**, entrada 8, tabla 5), confirmándose con la reacción de **2i** que dio lugar a la mezcla 2:1 de los compuestos **3i/3i'** (entrada 9, tabla 5).

Con objeto de estudiar el mecanismo de la reacción, se llevó a cabo la reacción con  $D_2O$ , observando la incorporación del deuterio en el doble enlace del 95% (esquema 6). Para ello se necesitaron tiempos de reacción más largos, de las 4 horas necesarias en  $H_2O$  para conversión total se pasó a 10 horas en  $D_2O$  (el producto **3a<sub>D</sub>** se obtuvo con un rendimiento del 91%). Este efecto isotópico del disolvente indica que el paso limitante de la velocidad de reacción está relacionado con la ruptura del complejo de platino del doble enlace formado (intermedio **5a**) via deuterólisis.



Esquema 6

**Tabla 5.** Ciclación de alquínil-ácidos con el catalizador **1c** para obtener diferentes lactonas.<sup>a</sup>

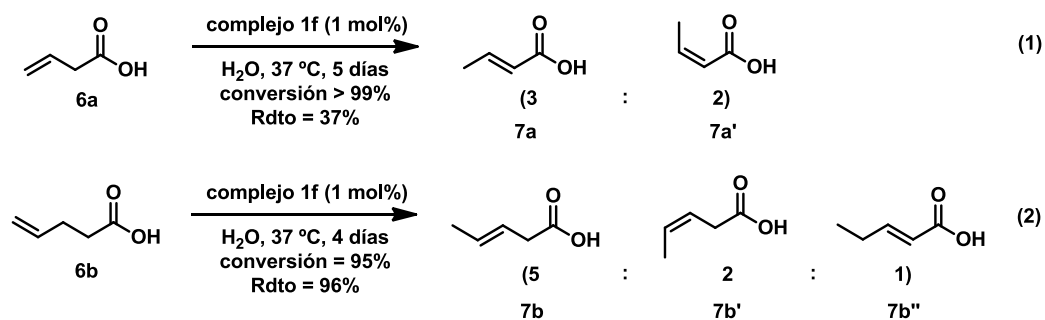
Entrada	Reactivo	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	n	Producto	Rdto (%)
1	<b>2a</b>	H	H	H	1		70
2	<b>2b</b>	H	H	H	2		46 <sup>b</sup>
3	<b>2c</b>	H	H	H	3		nr <sup>c</sup>
4	<b>2d</b>	CO <sub>2</sub> Et	H	H	1		75
5	<b>2e</b>	CO <sub>2</sub> Me		H	1		51
6	<b>2f</b>	CO <sub>2</sub> Me		H	1		73
7	<b>2g</b>	CO <sub>2</sub> H		H	1		84
8	<b>2h</b>	CO <sub>2</sub> Et	H	Me	1	 (Z/E>98:2) 3h + 3:1 <sup>d</sup>	70
9	<b>2i</b>	CO <sub>2</sub> Et		Me	1	 (Z/E>98:2) 3i + 2:1 <sup>d</sup>	59

<sup>a</sup> Todas las reacciones se realizaron con 0,2 mmol de reactivo en 0,2 mL de disolvente a 12 horas.<sup>b</sup> Esta reacción se llevó a cabo con el catalizador **1f** en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y el rendimiento se ha dado en función del material de partida recuperado. <sup>c</sup> No reacción. <sup>d</sup> En esta reacción utilizó el catalizador **1f** en lugar del **1c**.



### 2.3.4. Isomerización de dobles enlaces de ácidos grasos

Para el estudio de la reacción de ácidos grasos conteniendo dobles enlaces se comenzó con el ácido but-3-enoico **6a** a 37 °C. Éste se transformó en los ácidos conjugados **7a** y **7a'**. La relación de la mezcla de estos estereoisómeros *Z/E* fue de 3:2 (ecuación 1, esquema 7). El compuesto **6b** con el doble enlace en el carbono γ al grupo ácido también reaccionó dando lugar a una relación 5:2:1 de una mezcla de isómeros con los dobles enlaces interiores, siendo el isómero *E* **7b** y el ácido conjugado **7b''**, los isómeros mayoritario y minoritario, respectivamente (ecuación 2, esquema 7).



Esquema 7

Teniendo en cuenta estos resultados, decidimos llevar a cabo la reacción con un ácido graso insaturado con la cadena carbonada más larga, siendo el compuesto

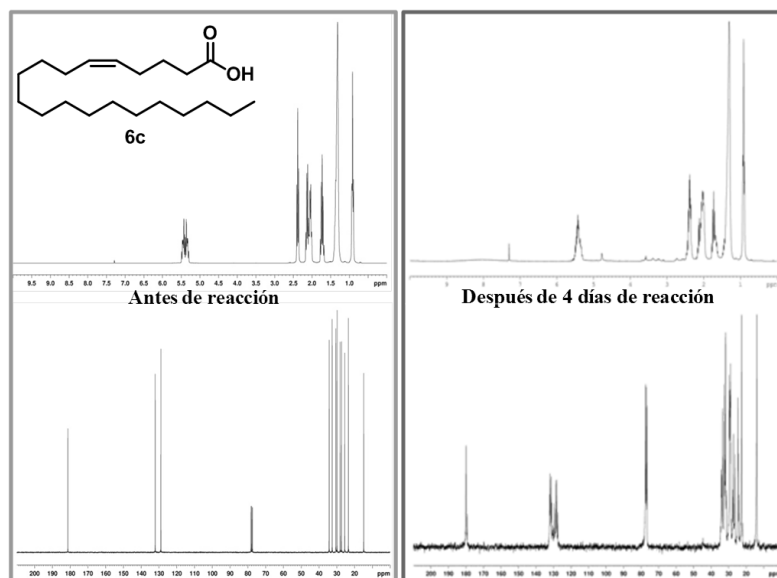


Figura 21

empleado el ácido (Z)-icos-5-enoico **6c**. Después de cuatro días empleando las mismas condiciones de reacción que en los anteriores ensayos (catalizador **1f** 1 mol%, H<sub>2</sub>O y 37 °C), se detectó una mezcla de diferentes alquenil-ácidos (espectros de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C RMN antes y después de la reacción, figura 21). Por tanto, la naturaleza y propiedades de los ácidos grasos insaturados pueden verse alteradas por acción de estos complejos de platino, transformándose en otros lípidos diferentes, los cuales pueden no ser reconocidos por las enzimas encargadas de modificarlos y procesarlos para formar las biomoléculas necesarias para el correcto funcionamiento de las rutas metabólicas del organismo.

## 2.4. Conclusiones

Como conclusiones de los resultados obtenidos en este epígrafe, se puede afirmar que:

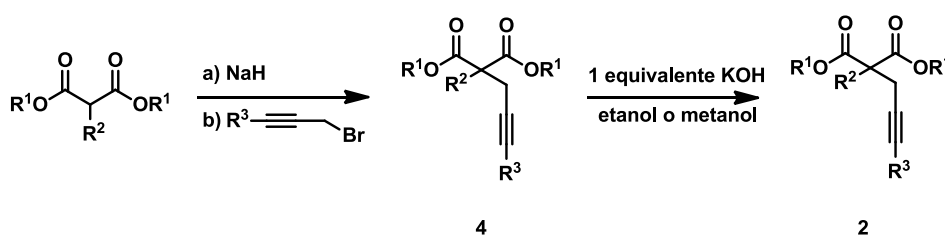
- a) los compuestos antitumorales de platino(II) y (IV) catalizan eficazmente la reacción de ciclación de alquino-ácidos a enol-lactonas.
- b) los complejos de platino no solamente se unen al ADN o a proteínas ricas en cisteínas, sino que también modifican biomoléculas como los ácidos grasos insaturados en medio acuoso.

### 2.5.1. Materiales e instrumentación

Los espectros de masas (EM) se registraron en un espectrómetro *Hewlett- Packard* 5985 utilizando condiciones de electrospray. Los espectros de masas de alta resolución (EMAR) se registraron trabajando en electrospray a 70 eV. Los espectros de resonancia magnética nuclear se registraron sobre disoluciones de cloroformo deuterado en espectrómetros *Bruker AC-300*, utilizando la técnica FT (a 300,1 MHz y a 75,0 MHz para  $^1\text{H}$ -RMN y  $^{13}\text{C}$ -RMN, respectivamente). Los valores de los desplazamientos químicos  $\delta$  se dan en unidades ppm, utilizando como referencia interna la señal del cloroformo deuterado a 7,26 ppm ( $^1\text{H}$ -RMN) o 77,0 ppm ( $^{13}\text{C}$ -RMN). Las multiplicidades aparecen dadas como s (singlete), d (doblete), t (triplete), c (cuartete), quint (quintete), m (multiplete) y sa (singlete ancho). En los espectros de  $^{195}\text{Pt}$ -NMR se utilizó como referencia externa 1,0 M  $\text{Na}_2\text{PtCl}_6$  en  $\text{D}_2\text{O}$ .

Los reactivos de partida comerciales y los disolventes se emplearon sin realizar ninguna purificación previa.

Las síntesis de los alquilil-ácidos derivados (**4d-e** y **4g-h**) se han llevado a cabo siguiendo los protocolos descritos en la bibliografía (véase esquema 8).<sup>120e</sup>



### Esquema 8

Las muestras de sangre se obtuvieron previo consentimiento del donante, las cuales fueron centrifugadas inmediatamente (15 minutos a 3.000 r.p.m. y 4 °C) y el plasma recogido por aspiración, sumergido, a continuación, en hielo y congelado (1,5 mL de alícuota).

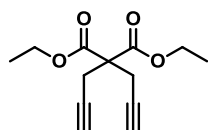
#### 2.5.2.1. Procedimiento general para la alquilación de malonatos de alquilo

Bajo atmósfera inerte se añade sobre una suspensión de NaH (1,1 equivalentes) en 5 mL de THF anhidro, gota a gota y a 0°C una disolución del correspondiente malonato (1 equivalente) en THF anhidro (10 mL). Una vez la reacción alcanza la temperatura ambiente, se adiciona el correspondiente bromuro propargílico. Cuando la reacción se completa (seguida por CCF), ésta se neutraliza lentamente con agua a 0 °C y extrae con Et<sub>2</sub>O, la fase orgánica se seca con MgSO<sub>4</sub> anhidro y concentra a vacío.

---

#### 2,2-Di(prop-2-ynil)malonato de dietilo (4f)<sup>122</sup>

---



Fórmula molecular: C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>

Rdto (%) = 70

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 2.5.2.1. como sólido amarillo y utilizando el reactivo comercial propargilmalonato de dietilo. Los datos espectroscópicos coinciden con aquellos descritos previamente en la bibliografía.<sup>122</sup>

<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 4,24 (c, *J* = 7,1 Hz, 4H), 2,99 (d, *J* = 2,52 Hz, 4H), 2,02 (s, 2H), 1,26 (t, *J* = 7,0 Hz, 6H).

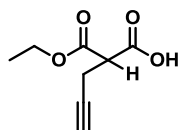
#### 2.5.2.2. Procedimiento general para la monohidrólisis de los malonatos sustituidos

Bajo atmósfera inerte se añade una disolución del malonato correspondiente (1 equivalente) en metanol o etanol anhidro sobre una disolución de KOH (1,2 equivalentes, 56 M) preparada previamente en el mismo disolvente. Durante dieciocho horas se mantiene la agitación a temperatura ambiente. Posteriormente, la mezcla de reacción se extrae con Et<sub>2</sub>O (3 x 10 mL) y se lava tres veces (3 x 10 mL) con una solución saturada de bicarbonato sódico. La fase acuosa resultante se acidifica hasta pH 1 utilizando para ello HCl concentrado y se extrae con Et<sub>2</sub>O. Las fases orgánicas se secan sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro y concentran a presión reducida dando lugar a los ácidos puros.

---

**Ácido 2-(Metoxycarbonil)pent-4-inoico (2d)**<sup>123</sup>


---

**Fórmula molecular:** C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>**Rdto (%)** = 69

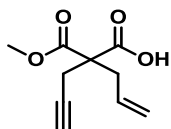
El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 2.5.2.2. como sólido amarillo blanco y utilizando el reactivo comercial, propagilmalonato de dimetilo, y metanol como disolvente. Los datos espectroscópicos coinciden con aquellos descritos previamente en la bibliografía.<sup>123</sup>

**<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 11,26 (sa, 1H), 4,18 (c, *J* = 7,1 Hz, 2H), 3,56 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 2,72 (ddd, *J* = 7,6, 2,5, 1,0 Hz, 2H), 1,99 (t, *J* = 2,6 Hz, 1H), 1,23 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H).

---

**Ácido 2-(Metoxycarbonil)-2-(prop-2-inil)pent-4-enoico (2e)**


---

**Fórmula molecular:** C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub>**Rdto (%)** = 77

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 2.5.2.2. como aceite incoloro y utilizando los reactivos alilmalonato de dietilo y bromuro de propargilo.

**<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 7,50 (sa, 1H), 5,65-5,51 (m, 1H), 5,17-5,06 (m, 2H), 3,70 (s, 3H), 2,73 (s, 4H), 2,00 (s, 1H).

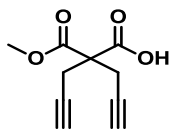
**<sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 174,8, 170,1, 131,3, 120,2, 78,5, 71,8, 56,9, 53,0, 36,6, 22,7.

**MS (TOF ES<sup>+</sup>):** [M+Na]<sup>+</sup> calculado para C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>NaO<sub>4</sub> 219,0627; encontrado 219,0616.

---

**Ácido 2-(Metoxycarbonil)-2-di(prop-2-inil)pent-4-inoico (2f)**<sup>118f-g</sup>


---

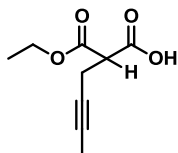
**Fórmula molecular:** C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>**Rdto (%)** = 69

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 2.5.2.2. como aceite incoloro, utilizando como reactivos 2,2-di(prop-2-inil)malonato de dimetilo (**4f**) y KOH (1,2 equivalentes) en metanol, después de 24 horas. Los datos espectroscópicos coinciden

con aquellos descritos previamente en la bibliografía.<sup>118f-g</sup>

**<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 9,20 (sa, 1H), 3,82 (s, 3H), 3,00 (s, 4H), 2,06 (s, 2H).

### Ácido 2-(etoxicarbonil)hex-4-inoico (2h)



**Fórmula molecular:** C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub>

**Rdto (%) = 81**

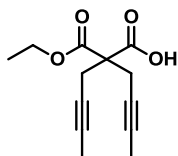
El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 2.5.2.2. como aceite incoloro.

**<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 9,81 (sa, 1H), 4,18 (c, *J* = 7,1 Hz, 2H), 3,50 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 2,68-2,66 (m, 2H), 1,68 (t, *J* = 2,3 Hz, 3H), 1,23 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 173,3, 168,2, 78,2, 74,3, 62,0, 51,4, 18,8, 14,0, 3,4.

**MS (TOF ES<sup>+</sup>):** [M+Na]<sup>+</sup> calculado para C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>NaO<sub>4</sub> 207,0627; encontrado 207,0616.

### Ácido 2-(but-2-inil)-2-(etoxicarbonil)hex-4-inoico (2i)



**Fórmula molecular:** C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>

**Rdto (%) = 70**

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 2.5.2.2. como sólido blanco.

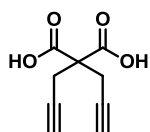
**<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 9,34 (sa, 1H), 4,18 (c, *J* = 7,0 Hz, 2H), 2,84 (s, 4H), 1,68 (s, 6H), 1,21 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 174,5, 169,2, 79,2, 72,9, 62,1, 57,1, 23,1, 13,9, 3,4.

**MS (TOF ES<sup>+</sup>):** [M+Na]<sup>+</sup> calculado para C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>NaO<sub>4</sub> 259,0940; encontrado 259,0937.

### Ácido 2,2-Di(prop-2-inil)malónico (2g)<sup>124</sup>

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento descrito en la bibliografía para la formación de diácidos como aceite incoloro. Los datos espectroscópicos coinciden con aquellos descritos previamente en la bibliografía.<sup>124</sup>



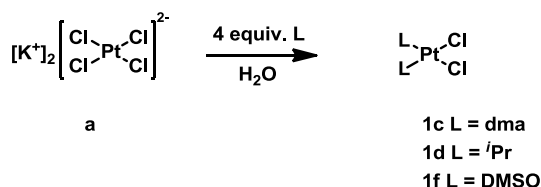
**Fórmula molecular:** C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>

**Rdto (%) = 51**

**<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 3,75 (sa, 2H), 3,02 (s, 4H), 2,10 (s, 2H).

### 2.5.2.3. Procedimiento general para la obtención de *cis*-[Pt(II)Cl<sub>2</sub>L<sub>2</sub>] simétricos (*1b-d* y *1f*)

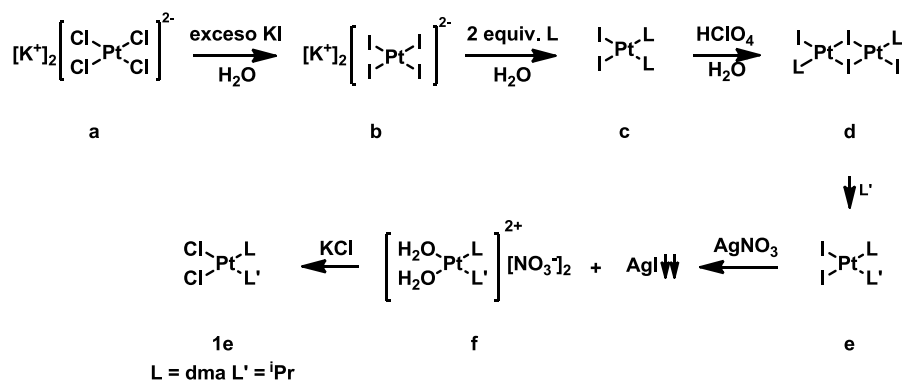
A una disolución de K<sub>2</sub>PtCl<sub>4</sub> (2,5 mmol, 1 equivalente) en agua destilada (2,0 mL) se le añade la correspondiente amina (4 equivalentes). La disolución se agita en ausencia de luz durante 24 horas. Transcurrido ese tiempo, la reacción se filtra y el sólido se purifica con agua y cloroformo (**1c** y **1d**)<sup>125</sup> o con agua, metanol y Et<sub>2</sub>O (**1f**).<sup>126</sup>



Esquema 9

### 2.5.2.4. Procedimiento general para la obtención de *cis*-[Pt(II)Cl<sub>2</sub>LL'] asimétricos (*1e*)

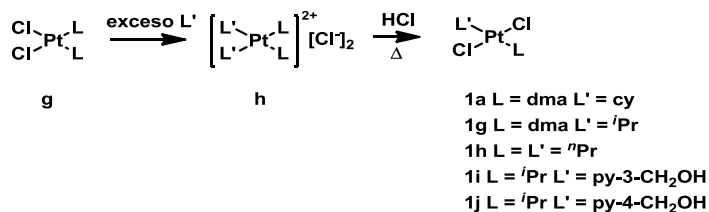
A una disolución de K<sub>2</sub>PtCl<sub>4</sub> (2,5 mmol, 1 equivalente) en agua destilada (50 mL) se le añade KI (9,5 equivalentes) y la mezcla resultante se agita durante hora y media a temperatura ambiente. Pasado dicho tiempo, se adiciona la correspondiente amina (2 equivalentes) hasta la obtención de un sólido amarillo-marrón (aproximadamente, 3 horas), el cual se filtra, lava y seca para, a continuación, introducirlo en un matraz con 10 mL de agua destilada y 30 mL de HClO<sub>4</sub> (70%). La agitación se mantiene durante 9 días, después de los cuales se filtra, lava y seca el sólido resultante para dar lugar al correspondiente dímero con puentes yoduro [PtI<sub>2</sub>(amina)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>. A continuación, mediante la adición de una amina distinta a la inicial (2 equivalentes) se rompe el dímero para dar lugar al complejo *cis* de platino(II) después de dos días de agitación a temperatura ambiente. Una metátesis empleando 1,85 equivalentes de AgNO<sub>3</sub> conduce a los complejos *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(amina)(amina)'] con buenos rendimientos.<sup>83</sup>



Esquema 10

### 2.5.2.5. Procedimiento general para la obtención de *trans*-[Pt(II)Cl<sub>2</sub>LL'] (1a y 1g-j)

A una suspensión del correspondiente complejo *cis*-Pt(II) (1,0 mmol, 1 equivalente) en agua destilada (1,0 mL) se le adiciona la amina deseada (4 equivalentes). La reacción se calienta a 80 °C hasta la casi completa desaparición del sólido. A continuación, la mezcla se filtra y el filtrado se concentra a vacío. El sólido obtenido se disuelve en agua destilada (2,0 mL), adicionando, sobre esta disolución, HCl concentrado (15 equivalentes). La mezcla se deja en agitación a 90 °C, durante 24 horas. Transcurrido ese tiempo, el sólido de la reacción se filtra y purifica por lavado con agua (**1a** y **1g-h**)<sup>95b,83</sup> o cloroformo con posterior cristalización (**1i-j**).<sup>127</sup>

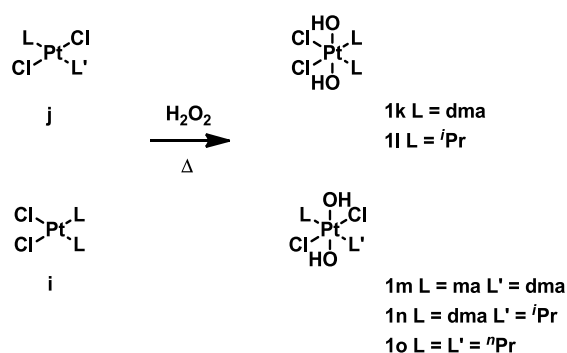


Esquema 11

### 2.5.2.6. Procedimiento general para la obtención de *cis* y *trans*-[Pt(IV)Cl<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>LL'] (1k-o)

A una suspensión del correspondiente complejo de Pt(II) (1,0 mmol, 1 equivalente) en agua destilada (1,0 mL) se le adiciona H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (20 equivalentes). La mezcla se calienta a 80 °C durante 5 horas, en ausencia de luz. A continuación, la mezcla de reacción se enfría hasta alcanzar la temperatura ambiente y la agitación se mantiene durante 12 horas más. Finalmente, la mezcla de reacción se filtra y el complejo se purifica por cristalización (**1k** y **1m**)<sup>95a</sup> o por sucesivos lavados con agua (**1l** y **1n-o**).<sup>94,95a</sup>

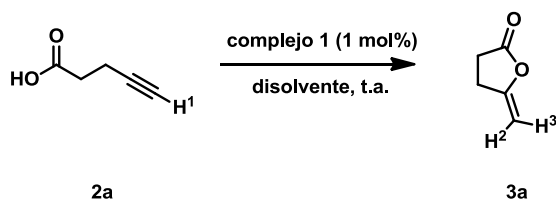




Esquema 12

### 2.5.3. Estudios cinéticos de la reacción de ciclación

Después de la adición del correspondiente catalizador **1** a la disolución del alquino ácido **2**, se tomó, periódicamente, una alícuota del medio de reacción para realizar, inmediatamente, el espectro de  $^1\text{H}$  RMN. Los intervalos entre alícuotas fueron de 1, 3, 5, 10 y 19 horas. El porcentaje de la conversión se calculó por la relación entre las integrales de los picos de los protones olefínicos ( $\text{H}^3$  y  $\text{H}^4$ ) y el protón acetilénico ( $\text{H}^1$ ) (esquema 13).



Esquema 13

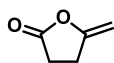
### 2.5.4. Procedimiento general para la ciclación de alquini-ácidos en medio acuoso

Sobre una solución preparada en un vial ordinario del correspondiente alquil-ácido **2** (0,2 mmol) en 0,2 mL de agua se añade el complejo de platino *cis*-[Pt(II)Cl<sub>2</sub>L<sub>2</sub>] (1 mol%, 0,002 mmol) manteniendo una agitación vigorosa. Después de la completa desaparición del ácido (seguida por  $^1\text{H}$  RMN y con tiempos de conversión total de 6 a 10 horas) la reacción se extrae con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 5 mL). Posteriormente, la fase orgánica se seca con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtra y concentra a vacío. Los productos obtenidos se purifican siguiendo los procedimientos indicados en cada caso.

---

**5-metilendihidrofuran-2-ona (3a)<sup>128</sup>**


---

**Fórmula molecular:** C<sub>5</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>**Rdto (%)** = 70

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 2.5.4. como aceite amarillo y utilizando como catalizador *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(dma)<sub>2</sub>] (**1c**). Después de realizar una cromatografía de columna de sílica gel (hexano/AcOEt 5:1) se consiguió el compuesto puro.

<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 4,68 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H), 4,26 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H), 2,85-2,79 (m, 2H), 2,63-2,57 (m, 2H).

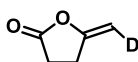
<sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 174,8, 155,6, 88,5, 27,8, 24,9.

MS (TOF ES<sup>+</sup>): [M]<sup>+</sup> calculado para C<sub>5</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub> 98,0368; encontrado 98,0373.

---

**5-(deuteriometilen)dihidrofuran-2-ona (3a<sub>D</sub>)**


---

**Fórmula molecular:** C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>DO<sub>2</sub>**Rdto (%)** = 91

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 2.5.4. como aceite amarillo y utilizando como catalizador el cisplatino y D<sub>2</sub>O como disolvente.

<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 4,68 (s, 1H), 2,85 (t, *J* = 8,4 Hz, 2H), 2,63 (t, *J* = 8,4 Hz, 2H).

<sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 175,0, 155,8, 88,5 (t, *J* = 24,7 Hz), 27,9, 25,0.

Para conocer la estereoquímica del doble enlace de **3a<sub>D</sub>** se realizó un NOESY (espectro de resonancia magnética nuclear de dos dimensiones, que proporciona la correlación existente entre pares de protones cercanos espacialmente) de **3a** obteniendo señal de correlación entre los dos protones de los CH<sub>2</sub> del ciclo (H<sub>c</sub> y H<sub>d</sub>) y el pico más apantallado de los protones geminales del metileno (señal H<sub>b</sub> a 4,23 ppm) (véase figura 22). Por comparación de los espectros de <sup>1</sup>H RMN, se puso de manifiesto que el deuterio ocupaba la posición del protón H<sub>b</sub> (**3a**), al ser la señal a 4,23 ppm la única con pérdida de intensidad.

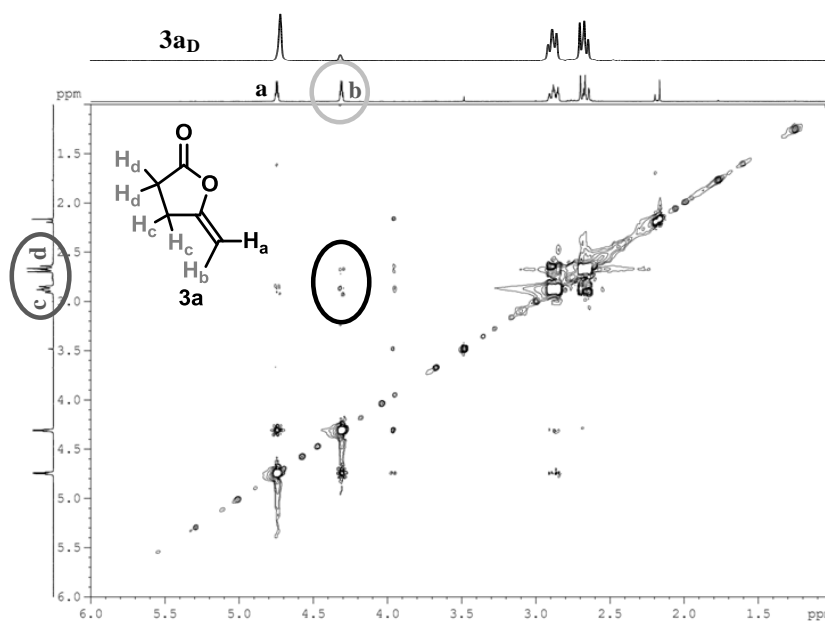
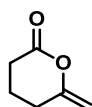


Figura 22

### 6-Metilentetrahidropiran-2-ona (3b)



Fórmula molecular:  $C_6H_8O_2$

Rdto (%) = 73

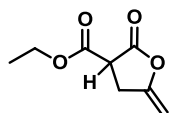
El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 2.5.4. como sólido blanco y utilizando como catalizador *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>] (**1f**).

<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 4,57 (s, 1H), 4,23 (s, 1H), 2,56 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H), 2,42 (t, *J* = 6,4 Hz, 2H), 1,81 (quint, *J* = 6,6 Hz, 2H).

<sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 168,2, 155,3, 93,7, 30,3, 26,7, 18,5.

MS (TOF ES<sup>+</sup>): [M]<sup>+</sup> calculado para C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub> 112,0524; encontrado 112,0521.

### 5-Metilen-2-oxodihidrofuran-3-carboxilato de etilo (3d)



Fórmula molecular:  $C_8H_{10}O_4$

Rdto (%) = 75

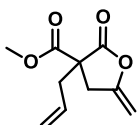
El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 2.5.4. como aceite amarillo y utilizando como catalizador *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(dma)<sub>2</sub>] (**1c**).

**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 4,74 (dd, *J* = 4,6, 2,4 Hz, 1H), 4,34-4,32 (m, 1H), 4,19 (c, *J* = 7,0 Hz, 2H), 3,67 (dd, *J* = 10,3, 7,6 Hz, 1H), 3,21 (ddt, *J* = 16,6, 9,7, 2,2 Hz, 1H), 3,01 (ddt, *J* = 16,6, 10,4, 1,6 Hz, 1H), 1,24 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 169,6, 166,9, 153,2, 89,7, 62,5, 46,4, 29,4, 14,0.

**MS (TOF ES<sup>+</sup>):** [M+Na]<sup>+</sup> calculado para C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>NaO<sub>4</sub> 193,0471; encontrado 193,0461.

### (3-Alil-5-metilen-2-oxodihidrofuran)-3-carboxilato de metilo (**3e**)



**Fórmula molecular:** C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub>

**Rdto (%) = 51**

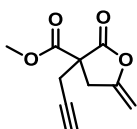
El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 2.5.4. como aceite amarillo y utilizando como catalizador *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(dma)<sub>2</sub>] (**1c**).

**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 5,70-5,56 (m, 1H), 5,14 (d, *J* = 11,7 Hz, 1H), 5,12 (d, *J* = 14,4 Hz, 1H), 4,72 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H), 4,30 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 3,72 (s, 3H), 3,22 (dt, *J* = 16,7; 1,7 Hz, 1H), 2,84 (dt, *J* = 16,7, 1,8 Hz, 1H), 2,75-2,67 (m, 1H), 2,60 (dd, *J* = 14,0, 7,1 Hz, 1H).

**<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 172,1, 169,3, 152,6, 131,0, 121,1, 89,6, 54,9, 53,4, 38,2, 34,4.

**MS (TOF ES<sup>+</sup>):** [M]<sup>+</sup> calculado para C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub> 196,0736; encontrado 196,0739.

### 5-Metilen-2-oxo-3-(prop-2-ynil)dihidrofuran-3-carboxilato de metilo (**3f**)



**Fórmula molecular:** C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>

**Rdto (%) = 73**

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 2.5.4. como aceite amarillo y utilizando como catalizador *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(dma)<sub>2</sub>] (**1c**).

**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 4,81 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 4,40 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,30 (d, *J* = 16,7 Hz, 1H), 3,18 (d, *J* = 16,7 Hz, 1H), 2,87 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H).

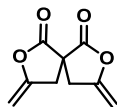
**<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 171,2, 168,4, 152,4, 89,7, 72,3, 54,4, 53,6, 34,6, 23,7.

**MS (TOF ES<sup>+</sup>):** [M+Na]<sup>+</sup> calculado para C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>NaO<sub>4</sub> 217,0471; encontrado 217,0457.

---

**5-Metilendihidrofuran-2-ona-3-spiro-5'-metilenodihidrofuran-2'-ona (3g)<sup>112</sup>**


---

**Fórmula molecular:** C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>**Rdto (%)** = 84

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 2.5.4. como Sólido blanco y utilizando como catalizador *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(dma)<sub>2</sub>] (**1c**).

**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 4,87 (d, *J* = 3,0 Hz, 1H), 4,44 (d, *J* = 3,0 Hz, 1H), 3,39 (d, *J* = 15,3 Hz, 1H), 2,88 (d, *J* = 15,3 Hz, 1H).

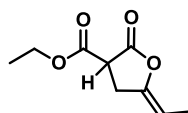
**<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 170,8, 151,3, 91,1, 51,9, 36,5.

**MS (TOF ES<sup>+</sup>):** [M+Na]<sup>+</sup> calculado para C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>NaO<sub>4</sub> 203,0314; encontrado 203,0304.

---

**5-Etiliden-2-oxodihidrofuran-3-carboxilato de etilo (3h)<sup>118f</sup>**


---

**Fórmula molecular:** C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub>**Rdto (%)** = 70 (rendimiento conjunto de **3h** y **3h'**)

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 2.5.4. como aceite amarillo, mezcla inseparable del compuesto **3h'**, utilizando como catalizador *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>] (**1f**) y sin una posterior purificación. Los isómeros se identificaron comparando sus datos con los encontrados en la bibliografía y mediante el análisis de experimentos 2D de RMN.

**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 5,00 (dt, *J* = 4,4, 0,7 Hz, 1H), 4,21 (c, *J* = 7,3 Hz, 2H), 3,52 (dd, *J* = 8,0, 7,3 Hz, 1H), 2,75-2,66 (m, 1H), 2,50-2,40 (m, 1H), 1,87 (d, *J* = 1,0 Hz, 3H), 1,29 (t, *J* = 7,3 Hz, 3H).

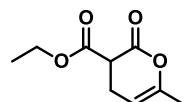
**<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 168,2, 165,3, 150,3, 98,6, 62,0, 45,6, 22,4, 18,4, 14,0.

**MS (TOF ES<sup>+</sup>):** [M]<sup>+</sup> calculado para C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub> 184,0736; encontrado 184,0745.

---

**6-Metil-2-oxo-3,4-dihidropiran-3-carboxilato de etilo (3h')<sup>118f</sup>**


---

**Fórmula molecular:** C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub>**Rdto (%)** = 70 (rendimiento conjunto de **3h** y **3h'**)

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 2.5.4. como aceite amarillo, mezcla inseparable del compuesto **3h**, utilizando como catalizador *cis*-

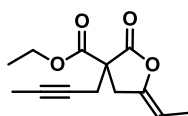
[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>] (**1f**) y sin una posterior purificación. Los isómeros se identificaron comparando sus datos con los encontrados en la bibliografía y mediante el análisis de experimentos 2D de RMN.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 4,68 (tc, *J* = 6,9, 1,5 Hz, 1H), 4,24 (c, *J* = 7,1 Hz, 2H), 3,68 (dd, *J* = 10,3, 7,9 Hz, 1H), 3,20 (ddt, *J* = 16,0, 7,8, 2,0 Hz, 1H), 3,00 (ddt, *J* = 16,0, 10,4, 1,5 Hz, 1H), 1,66 (dt, *J* = 6,9, 1,6 Hz, 3H), 1,27 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 169,9, 167,2, 145,9, 100,3, 62,4, 46,4, 29,3, 14,0, 10,4.

MS (TOF ES<sup>+</sup>): [M]<sup>+</sup> calculado para C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub> 184,0736; encontrado 184,0745.

### 3-(But-2-inil)-5-etiliden-2-oxodihidrofuran-3-carboxilato de etilo (**3i**)<sup>118f</sup>



Fórmula molecular: C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>

Rdto (%) = 59 (rendimiento conjunto de **3i** y **3i'**)

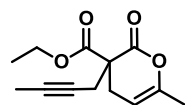
El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 2.5.4. como aceite marrón, mezcla inseparable del compuesto **3i'**, utilizando como catalizador *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>] (**1f**) y sin una posterior purificación. Los isómeros se identificaron comparando sus datos con los encontrados en la bibliografía y mediante el análisis de experimentos 2D de RMN.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5,02-5,00 (m, 1H), 4,23 (c, *J* = 7,0 Hz, 2H), 2,88 (c, *J* = 2,6 Hz, 2H), 2,76-2,69 (m, 2H), 1,87-1,86 (m, 3H), 1,74 (t, *J* = 2,5 Hz, 3H), 1,27 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 168,3, 165,5, 148,8, 98,2, 61,2, 77,9, 72,2, 51,2, 23,6, 21,8, 17,3, 12,9, 2,5.

MS (TOF ES<sup>+</sup>): [M+Na]<sup>+</sup> calculado para C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>NaO<sub>4</sub> 259,0940; encontrado 259,0931.

### 3-(But-2-inil)-6-metil-2-oxo-3,4-dihidropiran-3-carboxilato de etilo (**3i'**)<sup>118f</sup>



Fórmula molecular: C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>

Rdto (%) = 59 (rendimiento conjunto de **3i** y **3i'**)

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 2.5.4. como aceite marrón, mezcla inseparable del compuesto **3i**, utilizando como catalizador *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>] (**1f**) y sin una posterior purificación. Los isómeros se identificaron comparando sus datos con los encontrados en la bibliografía y mediante el análisis de

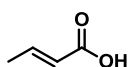
experimentos 2D de RMN.

**$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  4,69 (tc,  $J = 6,9, 1,7$  Hz, 1H), 4,22 (c,  $J = 7,0$  Hz, 2H), 3,21 (dq,  $J = 16,1, 1,6$  Hz, 1H), 3,12 (dq,  $J = 16,1, 2,0$  Hz, 1H), 2,81 (ct,  $J = 2,4$  Hz, 2H), 1,76 (t,  $J = 2,5$  Hz, 3H), 1,70 (dt,  $J = 6,9, 1,8$  Hz, 3H), 1,3 (t,  $J = 7,0$  Hz, 3H).

**$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  171,0, 167,5, 144,6, 98,8, 78,6, 71,6, 61,5, 53,8, 33,8, 23,2, 12,9, 9,4, 2,5.

**MS (TOF ES $^+$ ):**  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  calculado para  $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{NaO}_4$  259,0940; encontrado 259,0931.

#### Ácido (E)-buten-2-enoico (**7a**)<sup>129</sup>



**Fórmula molecular:**  $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_2$

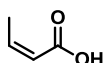
**Rdto (%)** = 37 (rendimiento conjunto de **7a** y **7a'**)

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 2.5.4. como aceite marrón, mezcla inseparable del compuesto **7a'**, utilizando como catalizador *cis*- $[\text{PtCl}_2(\text{DMSO})_2]$  (**1f**) y sin una posterior purificación. Los isómeros se identificaron comparando sus datos con los encontrados en la bibliografía y mediante el análisis de experimentos 2D de RMN.

**$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  7,2 (dc,  $J = 15,5, 6,9$  Hz, 1H), 5,92-5,75 (m, 1H), 1,84 (dd,  $J = 6,9, 1,4$  Hz, 3H).

**$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  171,7, 147,6, 122,1, 18,1.

#### Ácido (Z)-buten-2-enoico (**7a'**)<sup>130</sup>



**Fórmula molecular:**  $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_2$

**Rdto (%)** = 37 (rendimiento conjunto de **7a** y **7a'**)

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 2.5.4. como aceite marrón, mezcla inseparable del compuesto **7a**, utilizando como catalizador *cis*- $[\text{PtCl}_2(\text{DMSO})_2]$  (**1f**) y sin una posterior purificación. Los isómeros se identificaron comparando sus datos con los encontrados en la bibliografía y mediante el análisis de experimentos 2D de RMN.

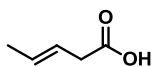
**$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  5,92-5,75 (m, 1H), 5,13 (d,  $J = 12,1$  Hz, 1H), 3,06 (d,  $J = 6,9$  Hz, 3H).

**$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  177,4, 129,7, 119,0, 18,0.

---

**Ácido (*E*)-pent-3-enoico (7b)<sup>131</sup>**


---

**Fórmula molecular:** C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>**Rdto (%)** = 96 (rendimiento conjunto de **7b**, **7b'** y **7b''**)

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 2.5.4. como aceite amarillo, mezcla inseparable de los compuestos **7b'** y **7b''**, utilizando como catalizador *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>] (**1f**) y sin una posterior purificación. Los isómeros se identificaron comparando sus datos con los encontrados en la bibliografía y mediante el análisis de experimentos 2D de RMN.

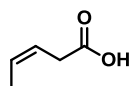
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5,68-5,41 (m, 2H), 2,99 (d, *J* = 6,3 Hz, 2H), 1,64 (d, *J* = 5,3 Hz, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 178,9, 130,1, 122,0, 37,8, 17,9.

---

**Ácido (*Z*)-pent-3-enoico (7b')<sup>124</sup>**


---

**Fórmula molecular:** C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>**Rdto (%)** = 96 (rendimiento conjunto de **7b**, **7b'** y **7b''**)

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 2.5.4. como aceite amarillo, mezcla inseparable de los compuestos **7b** y **7b''**, utilizando como catalizador *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>] (**1f**) y sin una posterior purificación. Los isómeros se identificaron comparando sus datos con los encontrados en la bibliografía y mediante el análisis de experimentos 2D de RMN.

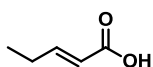
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5,68-5,41 (m, 2H), 3,08 (d, *J* = 6,9 Hz, 2H), 1,58 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 178,7, 128,1, 121,0, 32,4, 12,9.

---

**Ácido (*E*)-pent-2-enoico (7b'')<sup>132</sup>**


---

**Fórmula molecular:** C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>**Rdto (%)** = 96 (rendimiento conjunto de **7b**, **7b'** y **7b''**)

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 2.5.4. como aceite amarillo, mezcla inseparable de los compuestos **7b** y **7b'**, utilizando como catalizador *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>] (**1f**) y sin una posterior purificación. Los isómeros se identificaron comparando sus datos con los encontrados en la bibliografía y mediante el análisis de



---

experimentos 2D de RMN.

**$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  7,07 (dt,  $J = 15,6, 6,4$  Hz, 1H), 5,75 (d,  $J = 15,6$  Hz, 1H), 2,19 (ct,  $J = 6,8$  Hz, 2H), 1,01 (t,  $J = 7,4$  Hz, 3H).

**$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  172,5, 153,8, 119,7, 25,4, 11,9.

---

## 2.6. Bibliografía

- 101** Stoker, H. S. *Part II. Biological chemistry: Lipids* **2012**, Organic and biological chemistry, pp. 314-366, publicado por Brooks/Cole, Cengage Learning, ISBN: 1-133-10395-2.
- 102** Nelson, D. L. y Cox, M. M. *Lipids* **2008**, Lehninger principles of biochemistry, pp. 343-370, publicado por W. H. Freeman and Company, ISBN: 0-7167-7108-X.
- 101** Newsholme, E. y Leech, T. *Synthesis of fatty acids, triacylglycerol, phospholipids and fatty messengers: the roles of polyunsaturated fatty acids* **2010**, Functional Biochemistry in Health and Disease, pp. 223-252, publicado por Wiley-Blackwell, ISBN: 0-471-93165-9.
- 102** Raederstorff, D.; Pantze, M.; Bachmann, H. y Moser, U. *Int. Arch. Allergy Immunol.* **1996**, *111*, 284-290.
- 103** Niemoller, T. D. y Bazan, N. G. *Prostaglandins & other Lipid Mediators* **2010**, *91*, 85-89.
- 104** Uauy, R. y Dangour, A. D. *Nutr. Rev.* **2006**, *64*, S24-33.
- 105** Fotuhi, M.; Mohassel, P. y Yaffe, K. *Nat. Clin. Pract. Neurol.* **2009**, *5*, 140-152.
- 106** Kris-Etherton, P. M.; Harris, W. S. y Appel, L. J. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **2003**, *23*, 151-152.
- 107** Lee, S. *et col. Br. J. Nutr.* **2012**, *107*, 567-572.
- 108** Sergeeva, M.; Strokin, M. y Reiser, G. *Reprod. Nutr. Dev.* **2005**, *45*, 633-646.
- 109** (a) Das, U. N. *Curr. Pharma. Biotech.* **2006**, *7*, 467-482. (b) Bagga, D.; Wang, L.; Farias-Eisner, R.; Glaspy, J. A. y Reddy, S. T. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2003**, *100*, 1751-1756. (c) Calder, P. C. *Lipids* **2001**, *36*, 1007-1024.
- 110** (a) Fritsche, K. L. *Prost. Leuk. Ess. Fatty Acids* **2008**, *79*, 173-175. (b) Schmitz, G. y Ecker, J. *Prog. Lipid Res.* **2008**, *7*, 147-155.
- 111** (a) Covas, M. I. *Inflammopharmacology* **2008**, *16*, 216-218. (b) Chatelier, A.; Imbert, N.; Infante, J. L.; McKenzie, D. J. y Bois, P. *J. Exp. Biol.* **2006**, *209*, 4033-4039.
- 112** Mei, S.; Ni, H. M.; Manley, S.; Bockus, A.; Kassel, K. M.; Luyendyk, J. P.; Copple, B. L. y Ding, W. X. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2011**, *339*, 487-498.
- 113** Urpi-Sarda, M. *et col. Pharmacol. Res.* **2012**, *65*, 577-583.
- 114** Sok, D. E.; Han, C. Q.; Pai, J.-K. y Sih, C. J. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1982**, *107*, 101-108.
- 115** Chapuis, C. y Jacoby, D. *Appl. Catal., A*, **2001**, *221*, 93-117.
- 116** Lambert, C.; Utimoto, K. y Nozaki, H. *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 5323-5326.

- 117** Wakabayashi, T.; Ishii, Y.; Ishikawa, K. y Hidai, M. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 2123-2124
- 118** Para Hg(OTFA)<sub>2</sub> véase: (a) Spencer, R. W.; Tam, T. F.; Thomas, E.; Robinson, V. J. y Krantz, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 5589-5597. (b) Sofia, M. J. y Katzenellenbogen, J. A. *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 2331-2336. Para HgO véase: (c) Jellal, A.; Grimaldi, J. y Santelli, M. *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 3179-3182. (d) Yamamoto, M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans I* **1981**, 582-587. Para Hg(OAc)<sub>2</sub> véase: (e) Krafft, G. A. y Katzenellenbogen, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 5459-5466. (f) Rollinson, S. W.; Amos, R. A y Katzenellenbogen, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 4114-4125. (g) véase también 116d.
- 119** (a) Man, B. Y.-W.; Bhadbhade, M. y Messerle, B. A. *New J. Chem.* **2011**, *35*, 1730-1739. (b) Elgafi, S.; Field, L. D. y Messerle, B. A. *J. Organomet. Chem.* **2000**, *607*, 97-104. (c) Marder, T. B.; Chan, D. M. T.; Fultz, W. C. y Milstein, D. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1988**, 996-998. (d) Chan, D. M. T.; Marder, T. B.; Milstein, D. y Taylor, N. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 6385-6388.
- 120** Para Au(III)-NHC, véase: (a) Tomás-Mendivil, E.; Toullec, P. Y.; Díez, J.; Conejero, S.; Michelet, V. y Cadierno, V. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 2520-2523. Para Au<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, véase: (b) Toullec, P. Y.; Genin, E.; Antoniotti, S.; Genêt, J-P. y Michelet, V. *Synlett*, **2008**, 707-711. Para AuCl, véase: (c) Harkat, H.; Dembelé, A. Y.; Weibel, J-M.; Blanc, A. y Pale, P. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 1871-1879 (d) Genin, E.; Toullec, P. Y.; Marie, P.; Antoniotti, S.; Brancour, C.; Genêt, J-P. y Michelet, V. *Arkivoc* **2007**, *v*, 67-78. (e) Genin, E.; Toullec, P. Y.; Antoniotti, S.; Brancour, C.; Genêt, J-P. y Michelet, V. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 3112-3113. (f) Harkat, H.; Weibel, J-M. y Pale, P. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 6273-6276.
- 121** Komeyama, K. Takahashi, K. y Takaki, K. *Chem. Lett.* **2008**, *37*, 602-603.
- 122** Singh, R. K. *Synthesis* **1985**, 54-55.
- 123** Neatu, F.; Li, Z.; Richards, R.; Toullec, P. Y.; Genêt, J-P.; Dumbuya, K.; Gottfried, J. M.; Steinrück, H-P.; Pârvulescu, V. I. y Michelet, V. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 9412-9418.
- 124** Struthers, H.; Spingler, B.; Mindt, T. L. y Schibli, R. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 6173-6183.
- 125** (a) Melanson, R. y Rochon, F. D. *Can. J. Chem.* **1975**, *53*, 2371-2374. (b) Price, J. H.; Williamson, A. N.; Schramm, R. F. y Wayland, B. B. *Inorg. Chem.* **1972**, *11*, 1280-1284.
- 126** Melanson, R. y Rochon, F. D. *Can. J. Chem.* **1975**, *53*, 2371-2374.

- 127** Ramos-Lima, F. J.; Vrána, O.; Quiroga, A. G.; Navarro-Ranninger, C.; Halámková, A.; Rybnícková, H.; Hejmalová, L. y Brabec, V. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 2640-2651.
- 128** Amos, R. A. y Katzenellenbogen, J. A. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 560-564.
- 129** Jasicka-Misiak, I.; Wieczorek, P. P. y Kafarski, P. *Phytochemistry* **2005**, *66*, 1485-1491.
- 130** Ortiz, A.; Quesada, A. y Sánchez, A. *J. Chem. Ecol.* **2004**, *30*, 991-1000.
- 131** Šmejkal, T. y Breit, B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 311-315.
- 132** MacPeck, D. L.; Starcher, P. S. y Phillips, B. *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81*, 680-683.

## **CAPÍTULO 3**

*Estudios Mecanísticos de los Complejos  
Antitumorales como Catalizadores en Medio Acuoso*



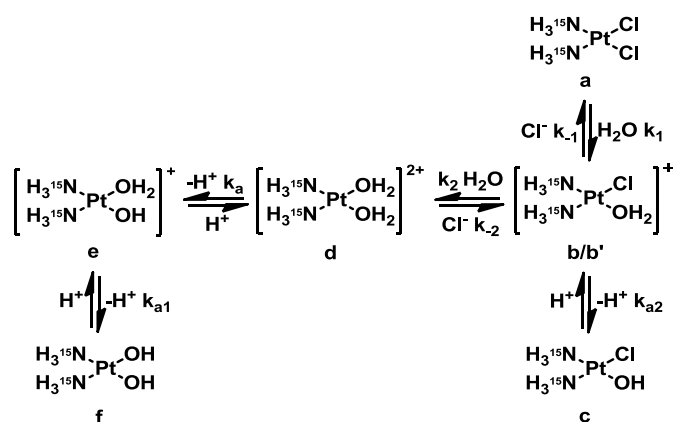
### 3.1. Objetivos

Los objetivos de este capítulo se centran en elucidar cuál es el mecanismo de la reacción de ciclación de alquino-ácidos, ya que la variación de cualquiera de las variables de la reacción puede tener una influencia importante en las reacciones, que podrían suceder intra y/o intercelularmente. Para ello, examinaremos la influencia de los siguientes factores: la concentración del catalizador de platino, el efecto de la agitación, el tiempo de reacción y la importancia del disolvente (agua) en la reacción. Después de analizar estos resultados nos centraremos en el mecanismo del complejo de platino como catalizador, utilizando la técnica de RMN de dos dimensiones, [ $^1\text{H}$ ,  $^{15}\text{N}$ ] HSQC.

Por otro lado, nos interesamos en el estudio de otros grupos funcionales como son los alcoholes y ésteres conteniendo una o más insaturaciones (ya sean dobles o triples enlaces). Además, se estudiará también la posible transformación que sufrirían moléculas biológicas con un papel significativo en las rutas metabólicas del organismo.

### 3.2. Estudios previos del mecanismo de los complejos antitumorales de platino empleando la técnica [ $^1\text{H}$ , $^{15}\text{N}$ ] HSQC

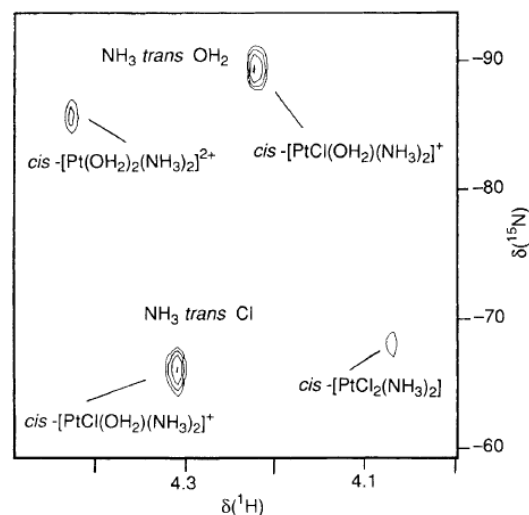
Está establecido que los complejos de platino deben sufrir una reacción de acuación para su activación, dando lugar a los complejos Pt(II)-OH<sub>2</sub> que son más reactivos que los correspondientes Pt-Cl o Pt-OH (esquema 14).<sup>133</sup>



Esquema 14

Por lo tanto, era necesario determinar las constantes de hidrólisis y valores de pK<sub>a</sub> de las acuoespecies. El uso de la espectroscopía de [ $^1\text{H}$ ,  $^{15}\text{N}$ ] HSQC (figura 23) ha permitido la obtención de los valores de pK<sub>a</sub> del cisplatino a bajas concentraciones (5 mM),<sup>134</sup> los cuales fueron para las especies monoacuo pK<sub>a</sub> = 6,41 y para el diacuo pK<sub>a1</sub> =

5,37 y  $pK_{a2} = 7,21$  (esquema 14). También, se determinó la constante de aciación para los dos pasos de hidrólisis,<sup>135</sup> siendo  $pK_1 = 2,07$  y  $pK_2 = 3,49$ , respectivamente (esquema 14).



**Figura 23**

Por el mismo método se pueden determinar los valores de  $pK_a$  de cualquier complejo de Pt(II) con ligandos amoniacos, amina primaria o secundaria.<sup>136</sup> Esta información es valiosa para el entendimiento de la relación estructura-actividad, debido a la reactividad que presenta el enlace Pt-OH<sub>2</sub> (**b/b'**, **d**, **e**) frente a la baja o inexistente reactividad del enlace Pt-OH (**c**, **f**).

Nuestro grupo de investigación puso a punto esta técnica para el estudio de las reacciones de aciación de los complejos *trans* de platino(II).<sup>137</sup> En dichos estudios se obtuvieron tanto las constantes de aciación de los dos pasos de hidrólisis como los  $pK_a$  de las acuopecies formadas. Los datos obtenidos se encuentran recogidos en la tabla 6. En ella se puede observar que la primera constante de aciación es menor en los complejos *cis* (entrada 1, tabla 6) que en los *trans* (entradas 2-4, tabla 6) corroborando, de este modo, los datos obtenidos previamente con el cisplatino y el transplatino y atribuyendo esta diferencia al mayor efecto *trans* de la amina frente al cloruro.



**Tabla 6.** Constantes de equilibrio y  $pK_a$  de los complejos previamente estudiados en nuestro grupo de investigación.<sup>a</sup>

Entrada	Complejo	$pK_1$	$pK_2$	$pK_a$	$pK_{a1}$	$pK_{a2}$
1	<i>cis</i> -[PtCl <sub>2</sub> ( <sup>15</sup> N-dma) <sub>2</sub> ]	2,50	3,69	6,37	5,17	6,47
2	<i>trans</i> -[PtCl <sub>2</sub> ( <sup>15</sup> N-mipa)( <sup>15</sup> N-ma)] <sup>b</sup>	3,90	4,20	5,98	4,32	7,33
3	<i>trans</i> -[PtCl <sub>2</sub> ( <sup>15</sup> N-dma)( <sup>15</sup> N-ma)] <sup>b</sup>	4,18	4,70	5,85	4,59	7,98
4	<i>trans</i> -[PtCl <sub>2</sub> ( <sup>15</sup> N-dma)( <sup>15</sup> N-mipa)]	3,89	- <sup>c</sup>	5,91	4,28	7,29

<sup>a</sup> 0,1 M NaClO<sub>4</sub>, 298 K, pH 5,8. <sup>b</sup> 0,1 M NaClO<sub>4</sub>, 298 K, pH 4,2-4,8. <sup>c</sup> Segundo paso de acución no observado.

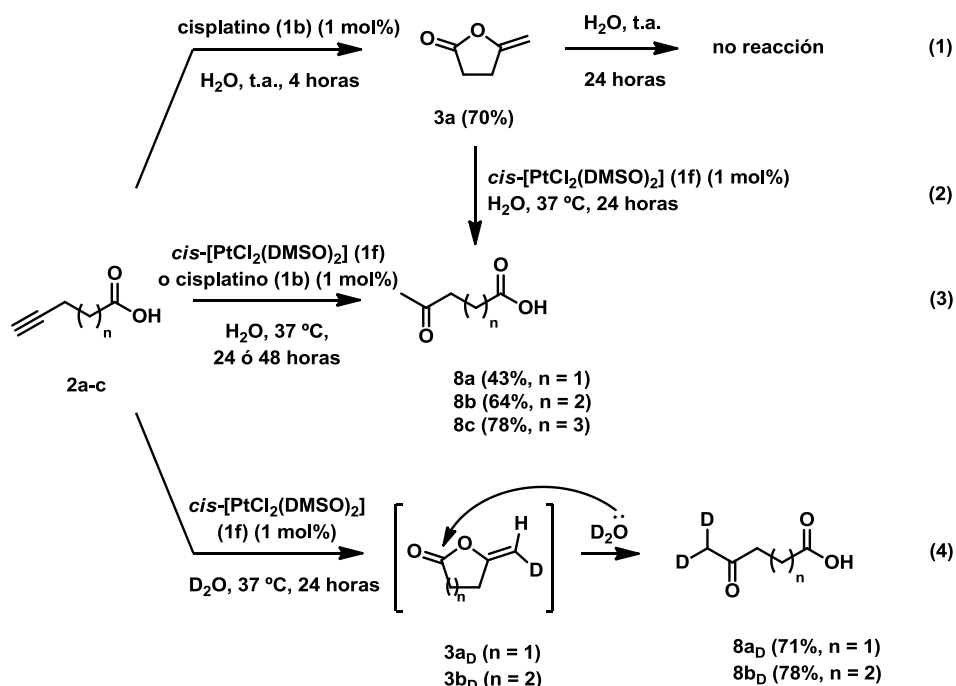
Los espectros y datos obtenidos para el complejo de platino *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(<sup>15</sup>N-dma)<sub>2</sub>]<sup>137a</sup> fueron necesarios para el desarrollo del epígrafe 3.3.5. ya que este complejo fue el empleado como catalizador.

### 3.3. Estudio de las distintas variables en las reacciones de ciclación de los complejos de platino

#### 3.3.1. Influencia del tiempo

Comenzamos el estudio de las variables de la reacción examinando la influencia que ejercía el tiempo (esquema 15). Para ello, nos centramos en el cisplatino como catalizador ya que, anteriormente (capítulo 2), se había observado que éste (**1b**) era capaz de transformar todo el material de partida **2a** en la enol-lactona **3a** (ecuación 1, izquierda) después de cuatro horas a temperatura ambiente. Sin embargo, cuando se mantenía la reacción durante 24 horas, aparecían trazas de un nuevo compuesto, por lo que, para poder aislar ese nuevo producto se forzaron las condiciones. Así, se llevó a cabo la reacción con *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>] (**1f**), uno de los complejos de platino más activos, con una carga de catalizador del 1 mol% y a 37 °C durante 24 horas, obteniendo el ácido 4-oxopentenoico **8a** (ecuación 3). Para descubrir si el catalizador interviene en el proceso, se aisló el compuesto **3a** empleando, a continuación, las condiciones anteriormente utilizadas pero sin complejo de platino. Después de 24 horas, se observó que no había tenido lugar la reacción (ecuación 1, derecha) y, sin embargo, cuando en la reacción del compuesto **3a** estaba presente el catalizador *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>] (**1f**), se observó la formación del producto **8a** con total conversión (ecuación 2) indicando de este modo que el catalizador de platino es necesario para transformar la lactona en el oxoácido (**8a-c**) correspondiente. También se evaluó la influencia de la longitud de la cadena del compuesto **2b-c** (n = 2 y 3, respectivamente), hallando conversión completa de los oxoácidos **8b-c** mediante la utilización de **1f** con tiempos de 24 horas (ecuación 3). Por otra parte, se estudió si el cisplatino (**1b**) también era capaz de catalizar la reacción de la

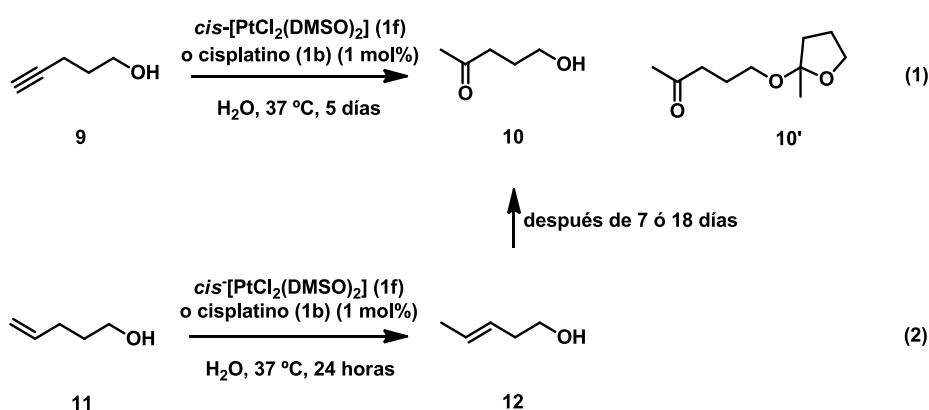
apertura de la lactona, en este caso se necesitaban tiempos de reacción mayores que cuando se utilizaba el complejo **1f** como catalizador para obtener una conversión completa (48 horas frente a 24 horas). La reacción también se llevó a cabo con D<sub>2</sub>O (ecuación 4, esquema 15), obteniendo el producto de cadena abierta **8a<sub>D</sub>-b<sub>D</sub>** con doble incorporación de deuterio al metilo terminal. Este proceso se produjo a través de los intermediarios **3a<sub>D</sub>-b<sub>D</sub>**, de los cuales solamente el compuesto **3a<sub>D</sub>** fue aislado bajo condiciones de reacción suaves (temperatura ambiente, cisplatino o *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(dma)<sub>2</sub>] (**1c**) y D<sub>2</sub>O) (esquema 6, capítulo 2). Así, una vez obtenidos los compuestos **3a<sub>D</sub>-b<sub>D</sub>**, una molécula de D<sub>2</sub>O ataca al carbonilo de la lactona provocando su apertura, incorporándose entonces el segundo deuterio y dando lugar a los compuestos **8a<sub>D</sub>-b<sub>D</sub>**.



Esquema 15

A continuación nos centramos en el estudio de la reactividad de alcoholes con dobles y triples enlaces (esquema 16). Se observó que la reacción del pent-4-in-1-ol (**9**) y el cisplatino (**1b**) después de cinco días a 37 °C conducía al oxoalcohol (**10**) (ecuación 1) y, en menor proporción, al acetal **10'** (22%), lo que estaba de acuerdo con otros procedimientos similares mediante la utilización de otros metales de transición descritos en la bibliografía.<sup>138</sup> El subproducto **10'** pudo ser transformado finalmente en **10** empleando tiempos mayores de reacción (en el caso del cisplatino se requieren 7 días),

indicando que la reactividad de estos sustratos (**9**) en comparación con la de los ácidos alquínlicos (**2a**) era mucho menor. De hecho, el compuesto **10** se aisló con una conversión completa después de cinco días, empleando para ello un catalizador más activo (**1f**). Respecto a la transformación del alqueno (**11**), el alcohol se transformó en el compuesto termodinámico más estable (**12**), junto con los compuestos **10** y **10'**, después de 24 horas, utilizando el compuesto *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>] (**1f**) con una conversión del 50% (ecuación 2). Se encontró una menor conversión con cisplatino, detectando en el crudo de reacción, además del compuesto **12**, los productos **10** y **10'**. Mayores tiempos de reacción (7 días con *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>] o 18 días con cisplatino) provocaron la transformación total del alcohol **12** en el oxoalcohol **10** con una conversión completa.

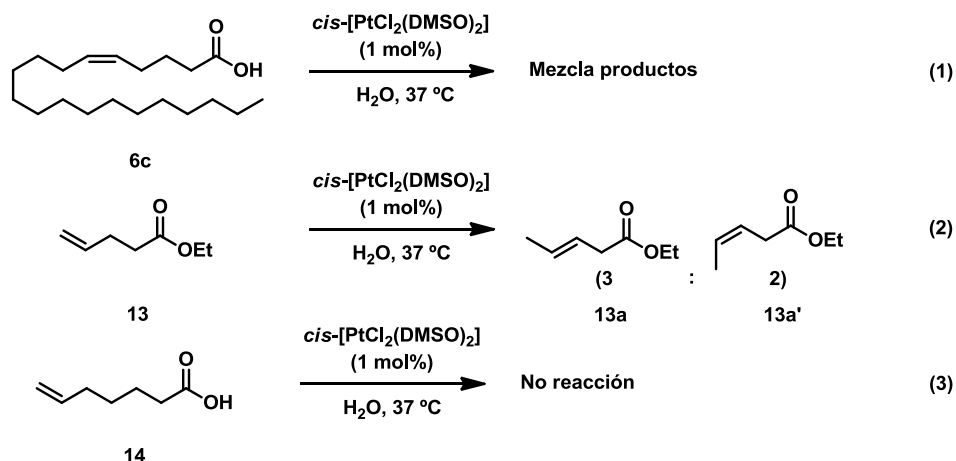


Esquema 16

Esta misma isomerización del doble enlace ha sido observada y descrita para ácidos carboxílicos en el capítulo 2 de la presente Tesis. En el esquema 7 (ecuaciones 1 y 2) se puede observar que para conversiones > 99% el tiempo empleado con el catalizador *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>] es de cinco días, en cambio, si el catalizador es el cisplatino, el tiempo para conseguir una conversión > 99% es superior, siete días (dato no presentado en el esquema 7). Sin embargo, este tipo de reacción requiere un rasgo distintivo en la estructura del sustrato orgánico: la presencia de un grupo ácido carboxílico, éster o alcohol unido al doble enlace a una distancia no mayor de cuatro átomos de carbono. De este modo (esquema 17), el ácido **6c** da lugar a una mezcla de productos (ecuación 1),<sup>a</sup> el éster produce los compuestos con el doble enlace isomerizado en una proporción 3:2 (ecuación 2), mientras que en el compuesto **14** no se observó reacción alguna,

<sup>a</sup> Para ver espectro de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C del reactivo y los productos resultantes, véase capítulo 2, página 61.

recuperando el material de partida inalterado (ecuación 3). Por tanto, el factor entrópico en estas reacciones juega un papel muy importante, indicando la necesaria precoordinación del complejo al sustrato orgánico para que la transformación del mismo tenga lugar.



**Esquema 17**

Como resumen de todos los datos aquí expuestos y los obtenidos en el capítulo anterior, se puede confirmar que:

- la ciclación del alquino-ácido fue la transformación más rápida con tiempos de reacción cortos (4-12 horas). Sin embargo, a tiempos mayores se produce la apertura del anillo de las lactonas, transformando el triple enlace en una cetona (esquema 15).
- los alquinoles y alquenoles también se transformaron en las correspondientes cetonas, necesitando para ello tiempos largos de reacción (5-18 días, esquema 16).
- se produce, además, una isomerización de los dobles enlaces para formar compuestos termodinámicamente más estables (4-18 días, esquemas 7, 16 y 17).

### 3.3.2. Efecto de la concentración y la agitación

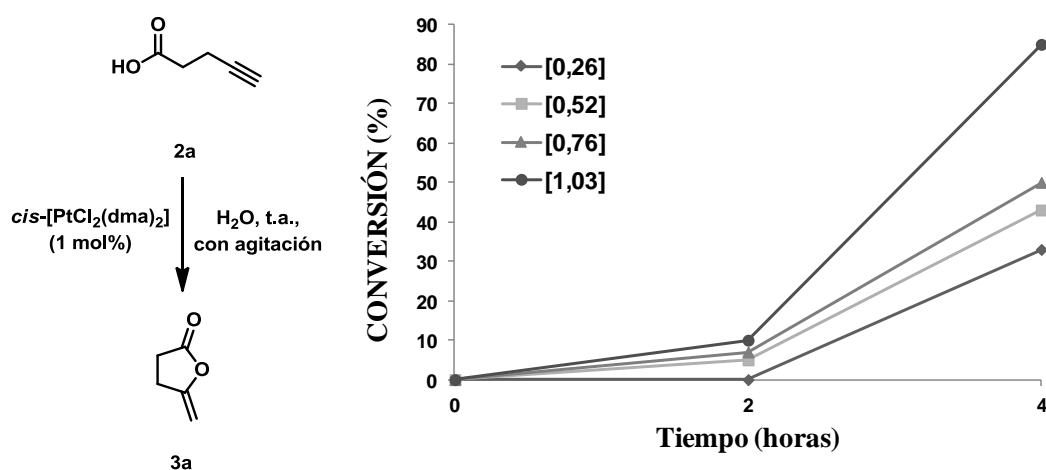
Durante algunos experimentos de resonancia magnética nuclear se observaron algunas variaciones importantes en los tiempos de conversión de la reacción comparadas con los estudios catalíticos realizados previamente. En ensayos anteriores, se había observado que el uso de cisplatino en la reacción modelo (ecuación 1, izquierda, esquema 15) conduce al producto ciclado en cuatro horas, con conversión completa. Sin embargo,

cuando se intentó reproducir el mismo experimento en un tubo de RMN se observó que eran necesarios mayores tiempos de reacción (más de 14 horas). Para aclarar estas diferencias, se estudió la influencia de la agitación y la concentración del material de partida, **3a**. Después de llevarse a cabo varios experimentos, tanto en matraces típicos como directamente en el tubo de RMN, se detectó que los tiempos de conversión de la reacción modelo no eran iguales en ambos sistemas. La conversión en un matraz ordinario tenía lugar a tiempos más cortos (de 1 a 4 horas, dependiendo del catalizador), que la que ocurría en el tubo de RMN (de 8 a 12 horas). La única diferencia en ambos sistemas era que en el tubo de RMN los experimentos se realizaban sin agitación, por lo tanto, se estudió la reacción modelo en un matraz corriente sin agitación. Después de cuatro horas, se tomó una alícuota y en el espectro de  $^1\text{H}$  RMN se pudo observar que solamente había una conversión muy baja ( $< 5\%$ ). Esto pone de manifiesto que variaciones en las condiciones de reacción, como la agitación, pueden tener una influencia importante en los valores finales de conversión. Este efecto de agitación puede tener especial relevancia en sistemas biológicos, donde en el sistema circulatorio se encuentran condiciones más dinámicas en comparación, por ejemplo, con el interior de la célula.

La concentración también es un factor importante para los tiempos de reacción. Para evaluar este efecto se estudió la reacción modelo utilizando diferentes concentraciones del sustrato **3a** y de complejo de platino *cis*- $[\text{PtCl}_2(\text{dma})_2]$  (**1c**) (tabla 7 y figura 23). Las medidas en  $^1\text{H}$  RMN se realizaron a dos y cuatro horas para cada concentración. Estos experimentos demostraron que cuando se utiliza una concentración mayor, los valores de conversión eran también mayores. Por ejemplo, la conversión con  $[\mathbf{3a}] = 0,26 \text{ M}$  a 2 horas fue del 0% (entrada 1), mientras que la conversión con  $[\mathbf{3a}] = 1,03 \text{ M}$  al mismo tiempo fue del 10%, (entrada 4). Además, la conversión también aumentaba sustancialmente a cuatro horas, obteniéndose un 33% con una  $[\mathbf{3a}] = 0,26 \text{ M}$  (entrada 1 a cuatro horas), mientras que con  $[\mathbf{3a}] = 1,03 \text{ M}$  la conversión fue del 85% (entrada 4 a cuatro horas). Este hecho parece indicar que el complejo de platino está actuando como pre-catalizador y, como se puede observar en la figura 24, requiere cierto tiempo para su activación (2-3 horas), observándose una conversión más rápida tras ese tiempo de activación.

**Tabla 7.** Efecto de la concentración de **2a** en las conversiones

$  \begin{array}{ccc}  \text{HO}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}\equiv\text{CH} & \xrightarrow[\text{H}_2\text{O, t.a., 2 y 4 horas, con agitación}]{\text{cis-[PtCl}_2(\text{dma})_2] \text{ (1 mol\%)}} & \text{Cyclic product (3a)} \\  \text{2a} & & \text{3a}  \end{array}  $			
Entrada	Conversión (%)		[2a] (M)
	2 horas	4 horas	
1	0	33	0,26
2	5	43	0,52
3	7	50	0,76
4	10	85	1,03

**Figura 24**

### 3.3.3. Influencia del agua

Una de las características más llamativas de estos catalizadores de platino es que son compatibles en medio acuoso y proporcionan buenas reactividades. En la bibliografía, podemos encontrar datos con el mismo valor de la conversión con otros metales pero utilizando disolventes orgánicos como el diclorometano o la acetona, además de tiempos de reacción más largos.<sup>118,139</sup> Para conocer la dependencia del agua, la reacción se llevó a cabo en cloroformo seco y cloroformo con 10% y 1% de agua. Los resultados muestran 100% de conversión solamente en los experimentos con agua y, en cambio, ninguna conversión en la reacción con el disolvente seco. Estos resultados están de acuerdo con la

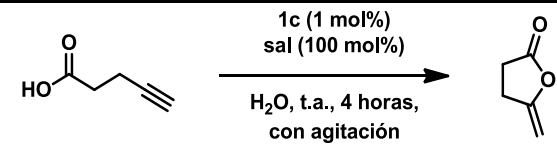
activación *via* reacción de acuación, indicando que el agua es esencial para la activación de estos complejos de platino.

### 3.3.4. Presencia de electrolito e iones biológicos

Uno de los aniones más abundantes en soluciones fisiológicas es el cloruro, sus concentraciones extracelular e intracelular son, normalmente, >100 mM y 4-20 mM, respectivamente.<sup>140</sup> La alteración de la concentración de este anión a través de las membranas celulares puede inducir efectos fisiológicos y modular la acción de ciertos metalofármacos como el cisplatino,<sup>141</sup> el cual puede sufrir reacción de acuación o no, dependiendo de la concentración de cloruros del medio. Para determinar la efectividad de la conversión en presencia de aniones cloruro (entradas 1-4, tabla 8) se comparó la reacción llevada a cabo sin ningún tipo de sal en agua (entrada 1), con el ensayo realizado con *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(dma)<sub>2</sub>] y NaCl (entrada 2), el cual produjo un descenso en el valor de conversión final. El empleo de F<sup>-</sup> (entrada 3) o Br<sup>-</sup> (entrada 4) en el medio de reacción no supuso ningún efecto en los valores de conversión.

Por otro lado, puede existir una estabilización del carboxilato mediada por el catión de la sal, con lo que la conversión sería menor, así que se procedió a sustituir el catión Na<sup>+</sup> por el catión Cs<sup>+</sup>, estudiando su efecto a continuación (entradas 2-3 y 5-6). Los valores que se obtuvieron fueron significativamente superiores en comparación con las sales de sodio, mientras que con NaCl y CsCl el aumento fue de un 12% (entradas 2 y 6). Si comparamos NaF con CsF, los valores de conversión fueron superiores en casi un 15% (entradas 3 y 5). Así, los mejores resultados se consiguieron utilizando sales de

**Tabla 8.** Influencia de los diferentes electrolitos en la conversión de la reacción.

<div style="text-align: center;">  <p>2a <span style="margin-left: 100px;"></span> 3a</p> </div>		
Entrada	Sal utilizada	Conversión (%)
1	Ninguna	49
2	NaCl	18
3	NaF	48
4	NaBr	51
5	CsF	62
6	CsCl	30
7	KClO <sub>4</sub>	47
8	NaClO <sub>4</sub>	52

cesio en lugar de las de sodio, lo cual puede indicar que la carga negativa del ácido carboxílico está más estabilizada por el catión sodio al ser su tamaño menor que el del catión cesio. De este modo, el ataque nucleófilo del ácido carboxílico al carbono interior del triple enlace se producirá en menor medida cuanto más estabilizada esté su carga. Finalmente, el uso del anión  $\text{ClO}_4^-$  (entradas 7 y 8) no produjo cambios en los valores de reactividad, siendo, entonces, el mejor anión para llevar a cabo los experimentos de RMN de dos dimensiones

### 3.3.5. Estudios de RMN

La técnica de dos dimensiones de RMN, [ $^1\text{H}$ ,  $^{15}\text{N}$ ] HSQC, es una excelente herramienta de estudio en las reacciones de acuación, como se ha indicado en la introducción, al presentar una alta sensibilidad a las bajas concentraciones fisiológicas utilizadas para los complejos antitumorales de platino (conteniendo un ligando amina donador con el nitrógeno marcado).<sup>142</sup> Además, está aceptado que el mecanismo de acción de la mayoría de este tipo de complejos antitumorales, incluido el cisplatino,<sup>133-135</sup> se basa en la reacción de acuación de los ligandos cloruro, siendo las acuopecies las responsables de producir el daño al ADN. La herramienta 2D RMN es de especial interés en el estudio del mecanismo catalítico, ya que permite la detección simultánea de todas las especies dicloruro, mono-, bis-acua y/o algunas otras especies potenciales.<sup>b</sup> Por otra parte, los datos cinéticos obtenidos anteriormente por nuestro grupo de investigación y la caracterización de las especies evaluadas han sido una información esencial<sup>137</sup> para llevar a cabo los estudios catalíticos presentados aquí. Utilizando como condiciones, concentraciones de platino y  $\text{NaClO}_4$  2,5 y 100 mM, respectivamente, y una proporción ácido/Pt = 100:1, se procedió a llevar a cabo la reacción del ácido 4-pentinoico **2a** con el complejo *cis*- $[\text{PtCl}_2(\text{dma})_2]$  seguida por  $^1\text{H}$  RMN a pH 2,8-3,0 (figura 25). Este pH se debe al pH del ácido (**2a**) empleado en la reacción catalítica. Como se puede comprobar, se observa conversión del sustrato ácido inicial (**2a**) en la lactona **3a** a las cinco horas. A las 10 horas de iniciar el experimento se pueden detectar tres especies, el ácido inicial **2a**, la enol-lactona **3a** y la apertura del anillo de ésta para dar lugar al oxoácido **8a**. Finalmente, a 20 horas, el producto mayoritario es el ciclo **3a**, pudiéndose observar, todavía, señales del reactivo **2a**. Este hecho no sorprende, considerando los resultados de agitación incluidos en el epígrafe 3.3.2. Así, la lenta reactividad detectada en el tubo de

<sup>b</sup> La cantidad de especiación ha sido calculada a partir del área total de las señales en cada espectro. La valoración se efectuó también en esta muestra y no afectó a las nuevas señales **V** y **VI**, lo cual indica que esas especies no son acuopecies.



RMN permite tener un rango más amplio de tiempos para poder encontrar los posibles intermedios en el experimento de dos dimensiones desarrollado a continuación.

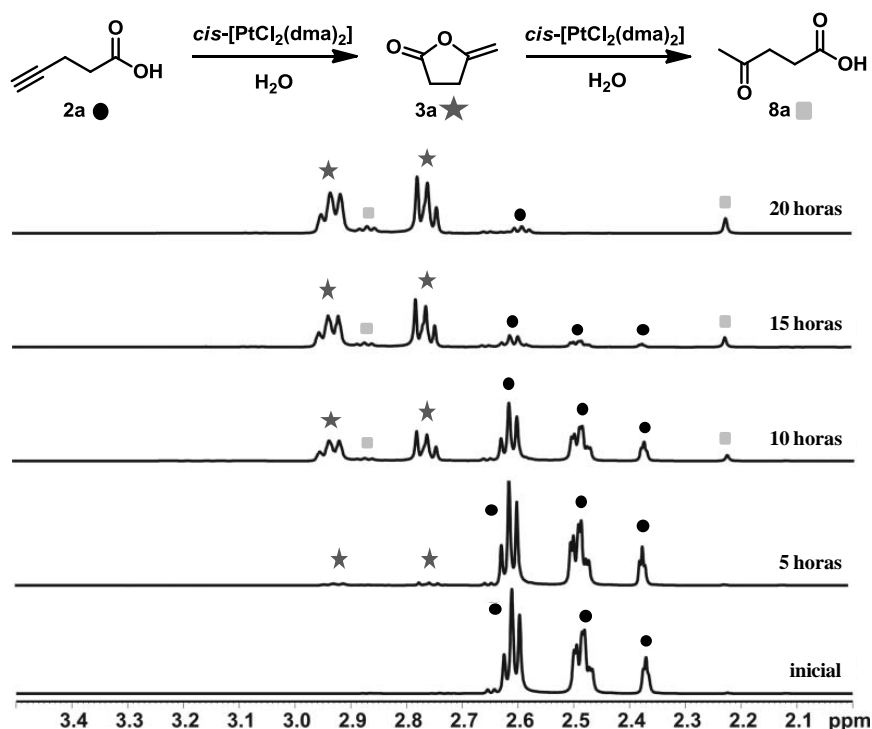


Figura 25

La evolución del espectro 2D [ $^1\text{H}$ ,  $^{15}\text{N}$ ] HSQC RMN (figura 26) se estudió bajo las mismas condiciones que las utilizadas en la obtención de los anteriores espectros de  $^1\text{H}$  RMN (figura 26). En la muestra recién preparada solamente se observó el material de partida (**I**). Poco después de una hora, apareció la especie monoacuo como dos señales (**II/III**), permaneciendo durante la evolución de la reacción y, lo que es más importante, en el espectro no se encontró ninguna especie bisacuo. Para corroborar las asignaciones de las señales monoacuo, se llevó a cabo la valoración del pH de las muestras, produciéndose las esperadas hidroxoespecies y sin llegar a observarse ninguna especie hidroxodinuclear. Estos datos parecen indicar que la presencia de especies monoacuo es esencial en la ciclación. Después de 20 horas dos nuevas especies fueron detectadas aunque en pequeña proporción a  $\delta(^{15}\text{N}/^1\text{H})$ : -42/5,75 ppm para la especie **V** y a  $\delta(^{15}\text{N}/^1\text{H})$ : -46/5,85 ppm para la especie **VI**, con un 5% y un 4%, respectivamente.<sup>137</sup> El área de estas señales (**V** y **VI**) decrece con el tiempo, siendo a 72 horas un 2% y 3%, respectivamente. Simultáneamente, a estas especies novedades y fuera del área típicamente

descrita para los complejos acua/hidroxo de platino, se detectó otra señal a  $\delta$  ( $^{15}\text{N}/^1\text{H}$ ): 24/7,9 ppm (especie **IV** en el área desplegado) como uno de los productos mayoritarios (30% frente al 45% de la acuoespecie)<sup>c</sup> la cuál correspondía a dimetilamina libre.

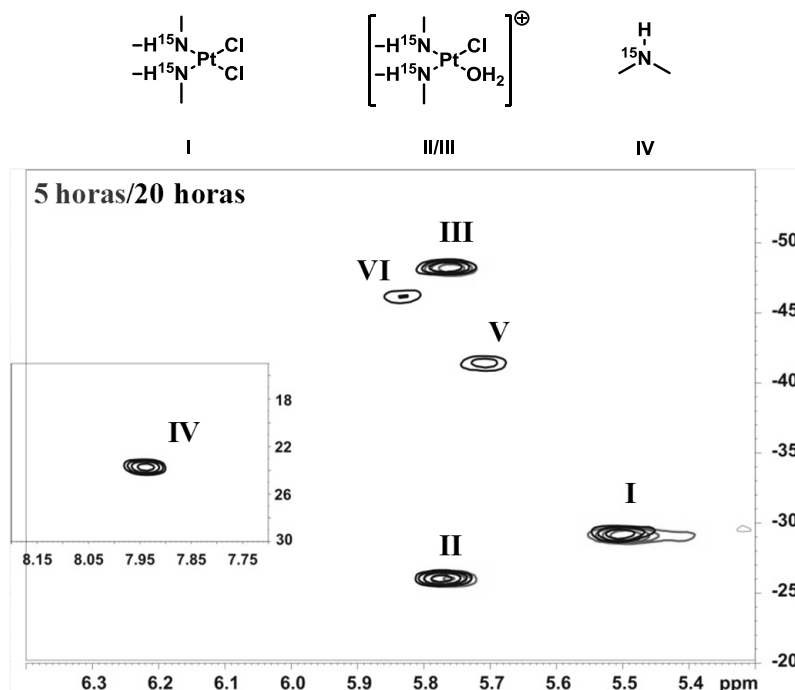


Figura 26

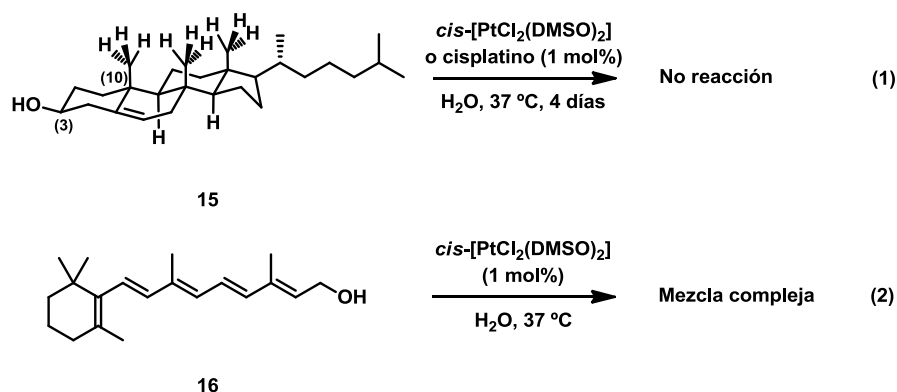
El siguiente paso que decidimos analizar fue la posible acción de estos complejos de platino con sustratos biológicos importantes en medio fisiológico.

### 3.4. Modificación de biomoléculas por los complejos de platino

Uno de los rasgos más importantes de estos complejos de platino, a parte de su actividad antitumoral, es la habilidad para interaccionar con distintas biomoléculas.<sup>143,144</sup> Como se vió en el capítulo 2 y cuyo estudio se ha extendido en este mismo capítulo, los compuestos de platino son capaces de isomerizar tanto ácidos (esquema 7, capítulo 2) como alcoholes (ecuación 2, esquema 16) con dobles enlaces. Estas transformaciones indican que los complejos de platino pueden modificar ácidos grasos presentes en los

<sup>c</sup> Después de cinco horas de reacción fue posible detectar el pico de dimetilamina libre aunque como producto minoritario (4% comparado con el 43% de las acuoespecies). Esta señal aumentaba en porcentaje con el primer signo de reacción secundaria observada en el estudio catalítico: la apertura del ciclo de la lactona para afrontar un nuevo ácido donde el triple enlace se transforma en una cetona (espectro de  $^1\text{H}$  RMN, figura 25 a partir de las 10 horas).

tejidos de las plantas y animales, además de alcoholes insaturados, biológicamente activos. Considerando que el rasgo estructural para la actividad catalítica mostrada por los complejos de platino es la presencia de grupos coordinantes (oxígeno, como ácidos o alcoholes) y una insaturación próxima al grupo quelante (menos de 6-7 carbonos), comenzamos examinando otras moléculas potenciales que tuvieran estos rasgos además de propiedades biomoleculares relevantes. El colesterol y el retinol (vitamina A) (esquema 18) fueron las moléculas elegidas por cumplir los aspectos antes mencionados. Primeramente, se examinó la reacción con el colesterol, componente de la membrana celular, que en presencia de complejos con geometría *cis* (cisplatino o *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>]) no condujo a ningún tipo de reacción (**15**), incluso, después de cuatro días y a 37°C (ecuación 1). Esto puede ser debido a la inadecuada orientación que presenta el oxígeno del grupo hidroxilo (posición 3) ya que el grupo metilo (posición 10) puede ser el causante de bloquear la coordinación del complejo de platino al doble enlace (arriba, izquierda, esquema 18). Finalmente, se analizó la reactividad del cisplatino con el retinol (**16**) a pH = 6,8, durante cuatro días y a 37 °C. La transformación del retinol comenzó a detectarse en las primeras 24 horas, observándose la descomposición total del material de partida después de cuatro días (ecuación 2). Este hecho indica la alta incompatibilidad del retinol con estos complejos de platino.



Esquema 18

Los resultados con retinol, que se encuentra, normalmente, en el plasma y entra a la célula por difusión, podrían tener importantes implicaciones, y pueden indicar que animales o pacientes bajo tratamiento con complejos de platino pueden sufrir modificaciones de biomoléculas por diferentes mecanismos.

---

### 3.5. Conclusiones

Como conclusiones de los resultados obtenidos en este capítulo, se puede afirmar que:

- a) uno de los requisitos básicos para que los complejos de platino catalicen la transformación de algunas importantes biomoléculas con distintas insaturaciones (dobles o triples enlaces) es su hidrólisis previa para dar lugar a la especie monoacu de platino.
- b) para que se produzca la modificación de los ácidos grasos con dobles enlaces es necesario que el doble enlace se encuentre a una distancia mínima de dos carbonos, o a partir del carbono  $\beta$  con respecto al carbonilo del ácido carboxílico.
- c) teniendo en cuenta que la concentración dada al paciente de cisplatino está en el rango de 0,2-1,35 mM y que los complejos son activos incluso a una concentración de 1,0 mM, es totalmente posible que estas reacciones tengan lugar en el cuerpo humano.

### 3.6. Parte experimental

#### 3.6.1. Materiales e instrumentación

Se siguieron todos los procedimientos descritos en el epígrafe 2.5.1. Adicionalmente, para las figura 25 y 26, la transformación tiempo-dependiente de la mezcla de reacción a 298 K fue seguida por  $^1\text{H}$  y  $[^1\text{H},^{15}\text{N}]$  HSQC RMN (1D y 2D, respectivamente). Los espectros de RMN fueron adquiridos utilizando un espectrómetro Bruker DRX-500 ( $^1\text{H}$  500,13 MHz;  $^{15}\text{N}$  50,68 MHz). Los desplazamientos químicos de  $^1\text{H}$  y  $^{15}\text{N}$  se ajustaron utilizando como sonda interna TSP y amoníaco líquido, respectivamente. Todos los datos de RMN fueron analizados mediante el uso del programa TopSpin (Bruker). Los valores de pH se determinaron utilizando el pHmetro *Metrohm744*, previamente calibrado con buffers a pH 7,00 y 4,01. Los ajustes de pH por valoración fueron hechos a 6 y 10 utilizando dos concentraciones de NaOH de 0,1 y 0,01 M.

#### 3.6.2. Síntesis de materiales de partida

Los reactivos de partida comerciales y los disolventes se emplearon sin realizar ninguna purificación posterior. El cisplatino fue adquirido en Sigma-Aldrich. Los compuestos *cis*-[Pt(DMSO) $_2$ Cl $_2$ ] (**1f**),<sup>126</sup> *cis*-[PtCl $_2$ (dma) $_2$ ] (**1c**)<sup>125</sup> y *cis*-[PtCl $_2$ ( $^{15}\text{N}$ -dma) $_2$ ]<sup>137a</sup> fueron sintetizados de acuerdo con los procedimientos encontrados en la bibliografía.

Las muestras de sangre se obtuvieron previo consentimiento del donante, las cuales se centrifugaron inmediatamente (15 minutos a 3.000 r.p.m. y 4°C), y el plasma recogido por aspiración, sumergido, a continuación, en hielo y congelado (1,5 mL de alícuota).

#### 3.6.3. Estudios cinéticos

Las muestras que se utilizaron para seguir los estudios cinéticos se prepararon como sigue: Una disolución acuosa del ácido 4-pentinoico se añadió sobre otra disolución acuosa de *cis*-[PtCl $_2$ ( $^{15}\text{N}$ -dma) $_2$ ]. Dichas disoluciones fueron preparadas utilizando la relación  $[\text{H}_2\text{O}]/[\text{D}_2\text{O}] = 90/10$ , una concentración de platino 2,5 mM y la proporción ácido/Pt = 100:1

#### 3.6.4. Procedimiento general para la ciclación de alquínil-ácidos

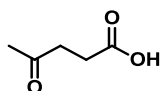
Sobre una solución preparada en un vial ordinario del correspondiente alquínil-ácido (0,2 mmol) en 0,2 mL de agua, se añade el cisplatino (1 mol%, 0,002 mmol), manteniendo una agitación vigorosa. Después de la completa desaparición del ácido (seguida por  $^1\text{H}$  RMN y con tiempos de conversión total de 6 a 10 horas) la reacción se

diluye con 5 mL de 10% HCl y se extrae con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 5 mL). Posteriormente, la fase orgánica se seca con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtra y concentra a vacío. Los productos obtenidos se purificaron siguiendo los procedimientos indicados en cada caso.

### 3.6.5. Procedimiento general para la obtención de oxoácidos

Sobre una solución preparada en un vial ordinario del correspondiente ácido acetilénico (0,2 mmol) en 0,2 mL de agua, se añade el complejo de platino (1 mol%, 0,002 mmol) especificado en cada compuesto, manteniendo una agitación vigorosa. Después de la completa desaparición del ácido (seguida por <sup>1</sup>H RMN) la reacción se diluye con 5 mL de 10% HCl y extrae con AcOEt (2 x 5 mL). La fase orgánica se seca con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtra y concentra a vacío. Los productos obtenidos se purificaron siguiendo los procedimientos indicados en cada caso.

#### Ácido 4-Oxopentanoico (8a)



**Fórmula molecular:** C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>

**Rdto (%)** = 43

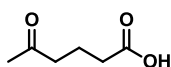
El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 3.6.5. como aceite amarillo. La conversión fue total después de 12 horas utilizando como catalizador cisplatino.

**<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 9,37 (sa, 1H), 2,68 (t, *J* = 6,3 Hz, 2H), 2,55 (t, *J* = 6,3 Hz, 2H), 2,12 (s, 3H), 2,63-2,57 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 205,7 (C), 177,2 (C), 36,8 (CH<sub>2</sub>), 28,7 (CH<sub>3</sub>), 27,0 (CH<sub>2</sub>).

**MS-ESI<sup>+</sup>:** [M+Na]<sup>+</sup> calculado para C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>NaO<sub>3</sub> 139,0365; encontrado 139,0368.

#### Ácido 5-Oxohexanoico (8b)



**Fórmula molecular:** C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub>

**Rdto (%)** = 64

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 3.6.5. como aceite amarillo. La conversión fue total después de 30 horas utilizando **1f** como catalizador.

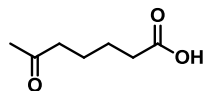
**<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 10,36 (sa, 1H), 2,47 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 2,32 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 2,08 (s, 3H), 1,83 (c, *J* = 7,1 Hz, 2H).

**<sup>13</sup>C RMN (75MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 208,3 (C), 179,0 (C), 42,3 (CH<sub>2</sub>), 32,9 (CH<sub>2</sub>), 29,9 (CH<sub>3</sub>),

18,5 (CH<sub>2</sub>).

**MS-ESI<sup>+</sup>**: [M+Na]<sup>+</sup> calculado para C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>NaO<sub>3</sub> 153,0522; encontrado 153.0516.

### Ácido 6-Oxoheptanoico (8c)



**Fórmula molecular:** C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>

**Rdto (%)** = 58

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 3.6.5. como aceite amarillo, con un 72% de conversión después de cuatro días y utilizando **1f** como catalizador. Una vez realizada una columna cromatográfica (hexano/AcOEt 1:1) se consiguió aislar el compuesto puro.

**<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 8,66 (sa, 1H), 2,40 (t, *J* = 6,5 Hz, 2H), 2,30 (t, *J* = 6,6 Hz, 2H), 2,08 (s, 3H), 1,58-1,55 (m, 4H).

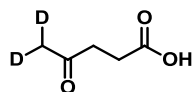
**<sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 208,9 (C), 179,4 (C), 43,2 (CH<sub>2</sub>), 33,7 (CH<sub>2</sub>), 29,8 (CH<sub>3</sub>), 24,0 (CH<sub>2</sub>), 23,0 (CH<sub>2</sub>).

**MS-ESI<sup>+</sup>**: [M+Na]<sup>+</sup> calculado para C<sub>7</sub>H<sub>12</sub>NaO<sub>3</sub> 167,0678; encontrado 167,0686.

### 3.6.6. Procedimiento general para la obtención de oxoácidos deuterados

Sobre una solución preparada en un vial ordinario del correspondiente ácido acetilénico (0,2 mmol) en 0,2 mL de agua deuterada, se añade el complejo **1f** (1 mol%, 0,002 mmol) manteniendo una agitación vigorosa. Después de la completa desaparición del ácido (seguida por <sup>1</sup>H RMN) la reacción se diluye con 5 mL de 10% HCl y extrae con AcOEt (2 x 5 mL). La fase orgánica se seca con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtra y concentra a vacío. El producto se purifica siguiendo los procedimientos indicados en cada caso.

### Ácido 5,5-dideuterio-4-oxopentanoico (8a<sub>D</sub>)



**Fórmula molecular:** C<sub>5</sub>H<sub>6</sub>D<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

**Rdto (%)** = 71

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 3.6.6. como aceite amarillo con total conversión.

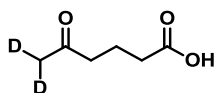
**<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 9,01 (sa, 1H), 2,68 (t, *J* = 6,3 Hz, 2H), 2,55 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H), 2,12-2,08 (m, 1H).

**<sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 208,1 (C), 177,6 (C), 37,6 (CH<sub>2</sub>), 29,1 (quint, *J* = 19,2

MHz, CH), 27,7 (CH<sub>2</sub>).

**MS-ESI<sup>+</sup>**: [M+Na]<sup>+</sup> calculado para C<sub>5</sub>H<sub>6</sub>D<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 141,0491; encontrado 141,0487.

### Ácido 6,6-dideuterio-5-oxohexanoico (8b<sub>D</sub>)



**Fórmula molecular:** C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>D<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

**Rdto (%)** = 78

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 3.6.6. como aceite amarillo con total conversión.

**<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 8,95 (sa, 1H), 2,52 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 2,36 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 2,14-2,09 (m, 1H), 1,87 (quint, *J* = 7,1 Hz, 2H).

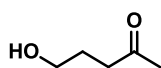
**<sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 208,9 (C), 178,4 (C), 42,3 (CH<sub>2</sub>), 33,0 (CH<sub>2</sub>), 29,3 (quint, *J* = 19,3 MHz, CH), 18,6 (CH<sub>2</sub>).

**MS-ESI<sup>+</sup>**: [M+Na]<sup>+</sup> calculado para C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>D<sub>2</sub>NaO<sub>3</sub> 155,0647; encontrado 155,0641.

### 3.6.7. Procedimiento general para la obtención de cetoalcoholes

Sobre sendas disoluciones preparadas en un vial de 4-pentin-1-ol y 4-penten-1-ol (0,2 mmol) en 0,2 mL de agua, se añade el catalizador cisplatino (**1b**) o *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>] (**1f**) (1 mol%, 0,002 mmol) manteniendo una agitación vigorosa. Después de la completa desaparición del alcohol (seguida por <sup>1</sup>H RMN, con tiempos de conversión de 5 a 18 días) la mezcla de reacción se extrae con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 5 mL). La fase orgánica se seca con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtra y concentra a vacío. El producto se purifica siguiendo los procedimientos indicados en cada caso.

### 5-Hidroxipentan-2-ona (10)



**Fórmula molecular:** C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>

**Rdto (%)** = 31 (2 días); 67 (7 días)

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 3.6.7. como aceite amarillo con total conversión después de 7 días (conversión = 48% después de 2 días) y utilizando el catalizador *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>] (**1f**).

**<sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 3,58 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H), 2,52 (t, *J* = 6,9 Hz, 2H), 2,11 (s, 3H), 1,77 (tt, *J* = 6,9, 6,2 Hz, 2H).

**<sup>13</sup>C RMN (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 209,4 (C), 62,2 (CH<sub>2</sub>), 40,5 (CH<sub>2</sub>), 30,0 (CH<sub>3</sub>), 26,5 (CH<sub>2</sub>).

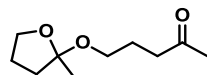


**MS-ESI<sup>+</sup>**: [M-H<sub>2</sub>O+H]<sup>+</sup> calculado para C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>O 85,0648; encontrado 85,0656.

---

**5-[(2-Metiltetrahidrofurano-2-il)oxi]pentan-2-ona (10')**

---



**Fórmula molecular:** C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O<sub>3</sub>

**Rdto (%)** = 22 (2 días)

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 3.6.7. como aceite amarillo con total conversión.

**<sup>1</sup>H RMN (500 Hz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 3,84-3,80 (m, 1H), 3,78-3,74 (m, 1H), 3,39 (dt, *J* = 9,3, 6,4 Hz, 1H), 3,33 (dt, *J* = 9,3, 6,1 Hz, 1H), 2,42 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H), 2,40 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H), 2,08 (s, 3H), 1,98-1,90 (m, 2H), 1,85-1,81 (m, 1H), 1,73 (tt, *J* = 7,3, 6,3 Hz, 2H), 1,66-1,63 (m, 1H), 1,35 (s, 3H).

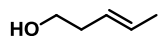
**<sup>13</sup>C RMN (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 208,9 (C), 107,4 (C), 67,5 (CH<sub>2</sub>), 59,9 (CH<sub>2</sub>), 40,7 (CH<sub>2</sub>), 38,0 (CH<sub>2</sub>), 29,9 (CH<sub>3</sub>), 24,6 (CH<sub>2</sub>), 24,5 (CH<sub>2</sub>), 22,0 (CH<sub>3</sub>).

**MS-ESI<sup>+</sup>**: [M+Na]<sup>+</sup> calculado para C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>NaO<sub>3</sub> 209,1148; encontrado 209,1154.

---

**(E)-Pent-3-en-1-ol (11)<sup>145</sup>**

---



**Fórmula molecular:** C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>O

**Rdto (%)** = 59

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 3.6.7. como aceite amarillo, como mezcla inseparable de **10** y **10'**, con una conversión del 72% después de 4 días y utilizando el catalizador *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>] (**1f**).

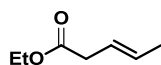
**<sup>1</sup>H RMN (500 Hz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 5,59-5,53 (m, 1H), 5,45-5,38 (m, 1H), 3,61 (t, *J* = 6,5 Hz, 2H), 2,27 (dt, *J* = 6,5, 1,1 Hz, 1H), 2,24 (dt, *J* = 6,5, 1,1 Hz, 1H), 1,69 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C RMN (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 128,1 (CH), 127,2 (CH), 62,0 (CH<sub>2</sub>), 35,9 (CH<sub>2</sub>), 18,0 (CH<sub>2</sub>).

---

**(E)-Pent-3-enoato de etilo (13a)**

---



**Fórmula molecular:** C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>O

**Rdto (%)** = 68

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 3.6.7. como aceite incoloro, como mezcla inseparable de **13a'**, con una conversión del 87% después de 4 días y utilizando el catalizador *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>] (**1f**).

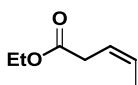
<sup>1</sup>H RMN (300 Hz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5,88-5,64 (m, 2H), 4,06 (c, *J* = 7,1 Hz, 2H), 2,93 (d, *J* = 4,3 Hz, 2H), 1,62 (d, *J* = 3,4 Hz, 3H), 1,18 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H).

<sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 172,1 (C), 129,2 (CH), 122,8 (CH), 60,4 (CH<sub>2</sub>), 38,1 (CH<sub>2</sub>), 17,8 (CH<sub>3</sub>), 14,1 (CH<sub>3</sub>).

---

**(Z)-Pent-3-enoato de etilo (13a')**

---



**Fórmula molecular:** C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>O

**Rdto (%)** = 68

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 3.6.7. como aceite incoloro, como mezcla inseparable de **13a**, con una conversión del 87% después de 4 días y utilizando el catalizador *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>] (**1f**).

<sup>1</sup>H RMN (300 Hz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5,88-5,64 (m, 2H), 4,06 (c, *J* = 7,1 Hz, 2H), 3,01 (d, *J* = 6,1 Hz, 2H), 1,57 (d, *J* = 6,2 Hz, 3H), 1,18 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H).

<sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 172,1 (C), 129,2 (CH), 122,8 (CH), 60,4 (CH<sub>2</sub>), 38,1 (CH<sub>2</sub>), 17,8 (CH<sub>3</sub>), 14,1 (CH<sub>3</sub>).

---

### 3.7. Bibliografía

- 133** Howe-Grant, M. E. y Lippard, S. J. *Aqueous platinum(II) chemistry; binding to biological molecules* **1980**, Metal Ions in Biological Systems, volume 11: Metal Complexes as Anticancer Agents, pp. 63-125, editores Helmut Sigel y Astrid Sigel, publicado por Dekker/Taylor & Francis, ISBN: 0-8247-1004-5.
- 134** Berners-Price, S. J.; Frenkiel, T. A.; Frey, U.; Ranford, J. D. y Sadler, P. J. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 789-791.
- 135** Davies, M. S.; Berners-Price, S. J. y Hambley, T. W. *Inorg. Chem.* **2000**, *39*, 5603-5613.
- 136** Para aminas (a) aromáticas, véase: Chen, Y.; Guo, Z.; Parsons, S. y Sadler, P. J. *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 672-676. (b) *trans*-DDP, véase: T. G. Appleton, A. J. Bailey, K. J. Barnham, J. R. Hall, *Inorg. Chem.* **1992**, *31*, 3077-3082.
- 137** (a) Cubo, L.; Quiroga, A. G.; Zhang, J.; Thomas, D. S.; Carnero, A.; Navarro-Ranninger, C. y Berners-Price, S. J. *Dalton Trans.* **2009**, 3457-3466. (b) Cubo, L.; Thomas, D. S.; Zhang, J.; Quiroga, A. G.; Navarro-Ranninger, C. y Berners-Price, S. J. *Inorg. Chim. Acta* **2009**, *362*, 1022-1026.
- 138** (a) Carvalho, M. F. N. N.; Ferreira, A. S. D. y Herrmann, R. *J. Organomet. Chem.* **2006**, *691*, 4124-4127. (b) Helfer, D. S.; Phaho, D. S. y Atwood, J. D. *Organometallic* **2005**, *25*, 410-415.
- 139** Para estudios realizados empleando catalizador metálico de: (a) bismuto, véase referencia 121. (b) cobre, véase: Mindt, T. L. y Schibli, R. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 10247-10250. (c) rutenio, véase: Mitsudo, T.; Hori, Y.; Yamakawa, Y. y Watanabe, Y. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 2230-2239.
- 140** Davis, A. P.; Sheppard, D. N. y Smith, B. D. *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 348-357.
- 141** Arnesano, F.; Scintilla, S. y Natile, G. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2007**, *46*, 9062-9064.
- 142** Chen, Y.; Guo, Z. y Sadler, P. J. *<sup>195</sup>Pt- and <sup>15</sup>N-NMR Spectroscopic Studies of Cisplatin Reactions with Biomolecules* **2006**, Cisplatin: Chemistry and Biochemistry of a Leading Anticancer Drug, pp. 293-318, editor Bernhard Lippert, publicado por Helvetica Chimica Acta Verlag, ISBN: 3-906390-20-9.
- 143** Cubo, L.; Casini, A.; Gabbiani, C.; Mastrobuoni, G.; Messori, L.; Jimenez-Barbero, J.; Navarro-Ranninger, C. y Quiroga, A. G. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 9139-9146.
- 144** Timerbaev, A. R.; Hartinger, C. G.; Aleksenko, S. S. y Keppler, B. K. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 2224-2248.
- 145** Hornyánszky, G.; Rohály, J. y Novák, L. *Synth. Commun.* **2008**, *38*, 1533-1540.



## **CAPÍTULO 4**

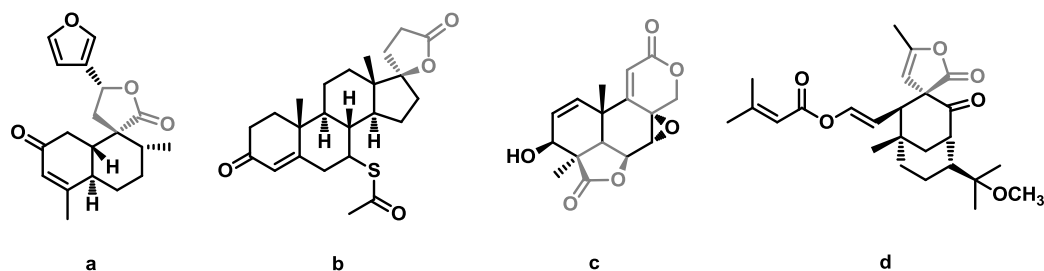
*Aplicación Sintética de los Complejos de Platino  
como Catalizadores*



#### 4.1. Objetivo e introducción

El objetivo de este capítulo es demostrar la compatibilidad que existe entre los distintos catalizadores orgánicos y los complejos de platino en distintas reacciones tándem. Así, se pensó en la síntesis de  $\gamma$ -lactonas con un centro cuaternario en el carbono  $\alpha$  al carbonilo de la lactona a partir de propargil malonatos y empleando los complejos de platino y organocatalizadores para llevar a cabo su síntesis.

Las lactonas están presentes en un gran número de productos fitoquímicos, debido a lo cual exhiben una amplia variedad de propiedades<sup>146</sup> siendo algunas de ellas: antibacterianas, antifúngicas, antihelmínticas, antihiperlipidémicas, cardiovasculares e, incluso, antiinflamatorias y anticancerígenas. En el esquema 19 se recogen algunas de las lactonas cuyas actividades varían desde anticancerígenas<sup>147</sup> o cardioprotectoras<sup>148</sup> (*trans*-dehidrocrotina) **a**, hasta antidiuréticas<sup>149</sup> (espirinolactona o Aldactone<sup>®</sup>) **b**. Así mismo, algunos tetranor derivados (como ejemplo, el compuesto **c**) han demostrado tener actividad como herbicidas.<sup>150</sup> Finalmente, lactonas con estructuras complejas como **d** se obtienen como subproducto de la síntesis de neo-vibsanina B que tiene propiedades neurotróficas.<sup>151</sup>

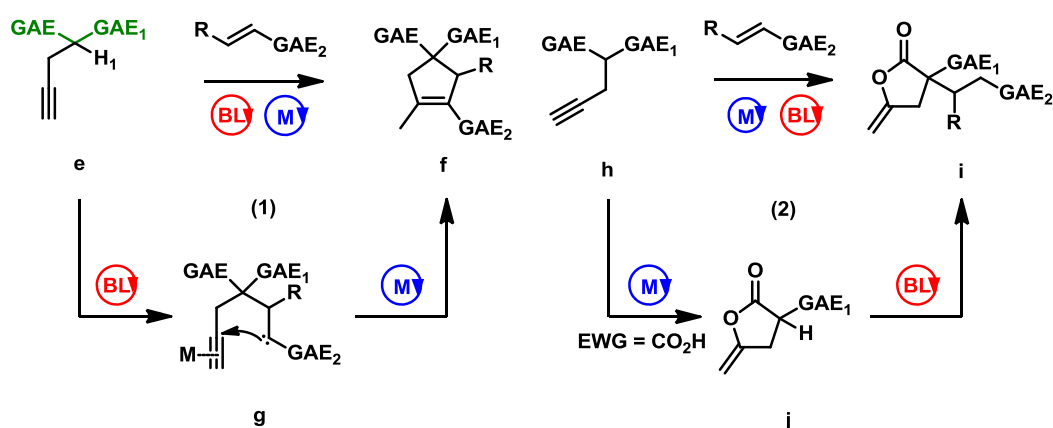


Esquema 19

Desde hace una década, la organocatálisis,<sup>152</sup> definida como la utilización de moléculas orgánicas de bajo peso molecular como catalizadores, se ha desarrollado como un nuevo área dentro de la catálisis y complementaria a las demás (enzimática y metálica). La organocatálisis presenta una serie de ventajas como son la baja toxicidad de los catalizadores empleados, su bajo coste y la estabilidad de los mismos tanto al aire y como a la humedad. Adicionalmente, no se requieren condiciones inertes ni disolventes secos. Sin embargo, el empleo exclusivo de un organocatalizador limita en gran medida el descubrimiento de nuevas reactividades. Por ello, en los últimos años se han llevado a cabo distintas investigaciones de la combinación de metal<sup>153</sup> y organocatalizador,<sup>152</sup> que

proporciona un método complementario para obtener estructuras nuevas y complejas o para aumentar la reactividad del metal.<sup>154</sup>

Dentro de la activación de los alquinos, la mayoría de los sistemas catalíticos descritos<sup>155</sup> en la bibliografía implican una activación inicial usando una base de Lewis (BL) seguido de la acción del catalizador metálico sobre el grupo alquino (izquierda, esquema 20). En este contexto, uno de los materiales de partida más útiles en organocatálisis es un metileno activado por dos grupos atractores de electrones (GAE). Sin embargo, existe una gran diferencia en cuanto a la reactividad entre sustratos acíclicos y cíclicos,<sup>156</sup> mostrando estos últimos, de forma general, mejores reactividades debido al incremento de la acidez del protón  $H_1$ .<sup>157</sup> Nosotros pensamos, en base a lo anteriormente expuesto y de manera opuesta a la desarrollada en la izquierda del esquema 20, que los derivados del propargil malonato **h** pueden ser ciclados por acción del platino obteniéndose el intermedio **j** que, debido al aumento de la acidez de su protón en  $\alpha$ , podría sufrir una adición organocatalítica de un alqueno activado dando lugar las lactonas con un centro cuaternario **i**, que no pueden ser obtenidas por el otro método (derecha, esquema 20). Por tanto, a partir de estas consideraciones iniciales, decidimos proceder a la optimización de la reacción (4.2.1.).



Esquema 20

## 4.2. Optimización y alcance de las reacciones tándem

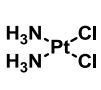
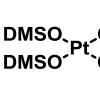
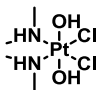
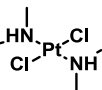
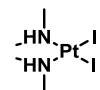
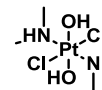
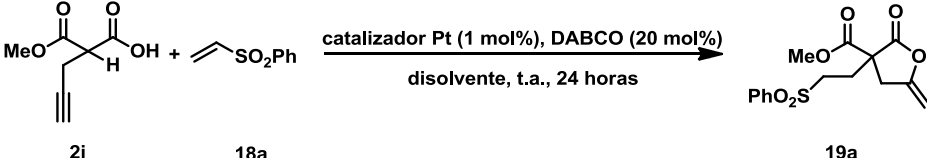
### 4.2.1. Optimización de las condiciones de reacción

Comenzamos el estudio de la reacción propuesta en la ecuación 2 del esquema 20, examinando los catalizadores de platino (**1b**, **1f**, **1k**, **1p-r**) en tolueno a temperatura ambiente, con un 20% de DABCO como organocatalizador, siendo éste el encargado de desprotonar el protón en  $\alpha$  al grupo carbonilo. Como se muestra en la tabla 9, el mejor



catalizador fue **1f** el cual dio lugar al compuesto **19a** con una conversión del 96% (entrada 1). Otros catalizadores de platino en estado de oxidación +2 (véase tabla 9) como **1b**, **1p**, o el iodo derivado **1q** (entradas 2-4), dieron conversiones moderadas del 41%, 57% y 29%, respectivamente. Los complejos de Pt(IV) fueron incluso menos favorables (entradas 5-6). En ausencia del catalizador de platino no se observó reacción (entrada 7), indicando que la ciclación es necesaria para producir la desprotonación. Después, se examinaron diferentes disolventes (entradas 8-10) y se encontró que la acetona, el xileno y el tolueno daban lugar a los mejores resultados.<sup>a</sup> Sin embargo, los

**Tabla 9.** Estudio de los catalizadores de platino para la reacción tándem del ácido 2-(metoxycarbonil)pent-4-inoico **2j** en presencia del catalizador DABCO.<sup>a</sup>

<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p><b>1b</b></p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><b>1f</b></p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><b>1k</b></p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><b>1p</b></p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><b>1q</b></p> </div> <div style="text-align: center;">  <p><b>1r</b></p> </div> </div>			
<div style="text-align: center;">  <p><b>2j</b>                      <b>18a</b>                      <b>19a</b></p> </div>			
Entrada	Disolvente	Catalizador	Conversión (%) <sup>b</sup>
1	Tolueno	<b>1f</b>	96
2	Tolueno	<b>1b</b>	41
3	Tolueno	<b>1p</b>	57
4	Tolueno	<b>1q</b>	29
5	Tolueno	<b>1k</b>	22
6	Tolueno	<b>1r</b>	0
7	Tolueno	-	nr <sup>c</sup>
8	Xileno	<b>1f</b>	96
9	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	<b>1f</b>	73
10	Acetona	<b>1f</b>	>98

<sup>a</sup> Todas las reacciones se llevaron a cabo en una escala de 0,1 mmol en 0,1 mL de disolvente y detenidas a las 24 horas. <sup>b</sup> La conversión se determinó mediante <sup>1</sup>H RMN. <sup>c</sup> No reacción.

<sup>a</sup> Todas estas reacciones fueron realizadas en presencia de 50 µl de agua. Los disolventes secos inhiben la reacción de ciclación porque, como se ha demostrado en el capítulo 3, los complejos de platino son pro-catalizadores siendo los catalizadores sus acuoespecies.

tiempos de reacción fueron significativamente mejores en acetona que en los solventes de naturaleza no polar.

#### 4.2.2. Alcance de la reacción

Una vez conseguidas las condiciones óptimas, se comenzó el estudio del alcance de la reacción (tabla 10). Los derivados malónicos **2d** ( $n = 1$ ,  $R = \text{etilo}$ ) y **2j** ( $n = 1$ ,  $R = \text{Me}$ ) dieron lugar a sus correspondientes lactonas **19a** (entrada 1) y **19b** (entrada 2), con un rendimiento del producto aislado del 46% y 69%, respectivamente. La reacción también era compatible con la adición de un metileno extra en la cadena del ácido **2k** ( $n=2$ ,  $R = \text{Et}$ ), pero el rendimiento disminuyó sustancialmente (entrada 3). Los nitrilos (**18b**), las cetonas (**18c**) y los ésteres (**18d**) sufrieron reacción catalítica con el malonato **2j**, produciendo una conversión completa y rendimientos comprendidos entre el 66% y el

**Tabla 10.** Alcance de la reacción con diferentes alquenos.<sup>a</sup>

$\text{RO-C(=O)-CH}_2\text{-C(=O)-OH} + \text{R}^1\text{-CH=CH-R}^2\text{-GAE} \xrightarrow[\text{acetona, t.a., 24 horas}]{\text{catalizador 1f (1 mol\%), DABCO (20 mol\%)}} \text{Lactone 19a-i}$

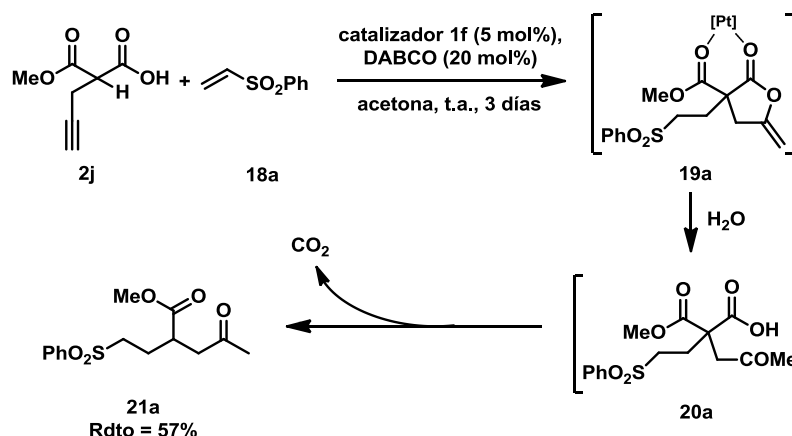
**2d, 2j-k**                      **18a-j**                      **19a-i**

Entrada	R	n	GAE	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	Rdto (%) <sup>b</sup>	Compuesto
1	Me ( <b>2d</b> )	1	SO <sub>2</sub> Ph ( <b>18a</b> )	H	H	69	<b>19a</b>
2	Et ( <b>2f</b> )	1	SO <sub>2</sub> Ph ( <b>18a</b> )	H	H	46	<b>19b</b>
3 <sup>c</sup>	Et ( <b>2f</b> )	2	SO <sub>2</sub> Ph ( <b>18a</b> )	H	H	22	<b>19c</b>
4	Me ( <b>2d</b> )	1	CN ( <b>18b</b> )	H	H	70	<b>19d</b>
5	Me ( <b>2d</b> )	1	COMe ( <b>18c</b> )	H	H	71	<b>19e</b>
6	Me ( <b>2d</b> )	1	CO <sub>2</sub> Et ( <b>18d</b> )	H	H	66	<b>19f</b>
7	Me ( <b>2d</b> )	1	CO <sub>2</sub> Et ( <b>18e</b> )	H	Me	nr <sup>d</sup>	-
8	Me ( <b>2d</b> )	1	CN ( <b>18f</b> )	H	Me	nr <sup>d</sup>	-
9	Me ( <b>2d</b> )	1	CN ( <b>18g</b> )	H	Ph	nr <sup>d</sup>	-
10 <sup>c</sup>	Me ( <b>2d</b> )	1	CO <sub>2</sub> Et ( <b>18h</b> )	CO <sub>2</sub> Et	Me	53	<b>19g/19g'</b> <sup>e</sup>
11 <sup>c</sup>	Me ( <b>2d</b> )	1	NO <sub>2</sub> ( <b>18i</b> )	H	Et	30	<b>19h/19h'</b> <sup>e</sup>
12	Me ( <b>2d</b> )	1	NO <sub>2</sub> ( <b>18j</b> )	H	Ph	72	<b>19i/19i'</b> <sup>e</sup>

<sup>a</sup> Todas las reacciones se realizaron con 0,3 mmol de **2d**, **2j-k**, 0,45 mmol de **18a-j**, 1 mol% de catalizador **1f**, 20 mol% de DABCO y 50 µl de agua en 0,2 mL de acetona durante 24 horas. <sup>b</sup> Rendimiento del producto aislado después de realizar una cromatografía cromatográfica de columna. <sup>c</sup> Esta reacción se detuvo después de 48 horas. <sup>d</sup> No hay reacción. <sup>e</sup> La proporción diastereoisomérica obtenida fue de 3:1.

71% (entradas 4-6). Desafortunadamente, los dobles enlaces  $\beta$ -sustituidos (**18h-j**) no reaccionaron en las mismas condiciones, indicando que es necesaria una gran activación electrónica para superar el intermedio impedido estéricamente (entradas 7-9). Así, se llevó a cabo la reacción con el alqueno trisustituido **18h**, el cual produce el producto final **19g/19g'** como mezcla 3:1 de diastereoisómeros (entrada 10). Curiosamente, el grupo nitro fue también suficientemente reactivo **18i-j** para lograr los compuestos finales **19h/19h'** y **19i/19i'** de moderados a buenos rendimientos (entradas 11-12).

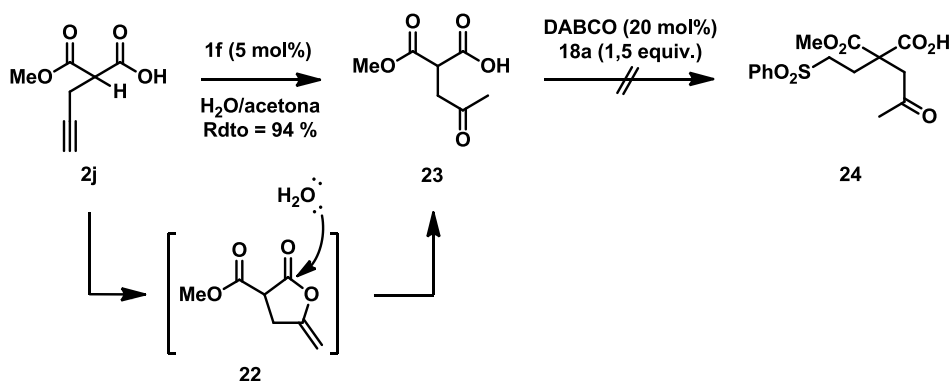
Con objeto de conocer si los productos finales obtenidos (**19**) eran capaces de evolucionar en el medio de reacción, se incrementó la carga de catalizador del complejo de platino **1f** al 5 mol%, prolongando también el tiempo empleado (esquema 21). Bajo estas condiciones, la reacción primero dió lugar al intermedio **19a** (observado por CCF). Este intermedio es activado por el complejo de platino que actúa como un ácido de Lewis y atacado por una molécula de agua, produciéndose la apertura del anillo de la lactona y obteniéndose, de este modo el intermedio **20a**.<sup>b</sup> Debido a las condiciones básicas del medio de reacción (causadas por el DABCO), **20a** sufrió una descarboxilación posterior, dando lugar a la sulfona final **21a** (esquema 21).



Después, se realizó un experimento para comprobar si la adición de Michael presentaba dependencia del intermedio cíclico o lactona (esquema 22). Por tanto, se

<sup>b</sup> Menor carga de catalizador **1d** (1-2% mol) no proporciona el compuesto final **21a** siendo únicamente observada el intermedio **19a**. Después de 48 horas, la lactona **19a** en presencia de agua no produjo reacción, indicando que el complejo de platino es necesario para conseguir la apertura de los productos.

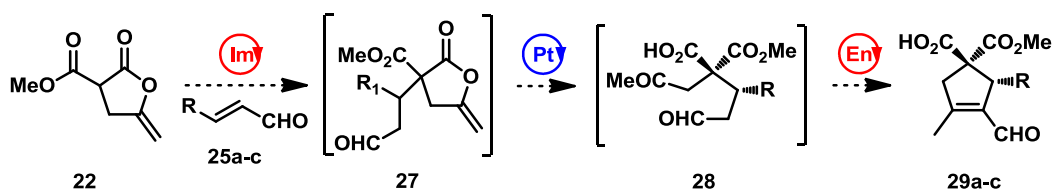
sintetizó el cetoácido **23** mediante la formación de la lactona **22** seguido de su apertura con agua catalizada por platino. A continuación, se hizo reaccionar el compuesto **23**, previamente aislado, bajo las mismas condiciones de reacción empleadas en la obtención del compuesto **21a** en ausencia de **1f** (20 mol% DABCO, 1,5 equivalentes de **18a**, acetona, t.a.), pero, incluso, después de cinco días, la reacción no se produjo. Este hecho, indica que solamente el sustrato cíclico puede reaccionar bajo esas condiciones de reacción.<sup>c</sup>



Esquema 22

#### 4.3. Proceso catalítico tándem iminio-platino y ciclación vía enamina

Dada la conocida reactividad de las enol lactonas<sup>158</sup> y habiendo determinado que el intermedio cíclico es necesario para que se produzca la adición de Michael, comenzamos a interesarnos en desarrollar la activación vía iminio de aldehídos  $\alpha,\beta$ -insaturados **25a-c** utilizando como catalizador el derivado de la prolina (*S*)- $\alpha,\alpha$ -difenílprolinol trimetilsilil éter (**26**). Siguiendo la reacción general indicada en el esquema 23, la lactona **22** puede reaccionar en presencia del catalizador imino dando lugar al aldehído **27a-c** como intermedio de reacción. A continuación, podría producirse la apertura del mismo con una molécula de agua catalizada por el platino, dando lugar al intermedio **28** que, por



<sup>c</sup> DABCO y el compuesto ácido **16** dieron la correspondiente sal, evitando la desprotonación de la posición en  $\alpha$  al ácido.

## Esquema 23

mediación del catalizador **26**, puede sufrir una ciclación vía enamina. Una posterior deshidratación del aldol obtenido, conduce al compuesto final **29a-c**.

Se comenzó el estudio mediante la reacción del crotonaldehído **25a**, la lactona **22**, el éter silipropinol **26** (20 mol%),<sup>d</sup> DABCO (20 mol%) y el 1 mol% del catalizador de platino **1f** (primer paso en el esquema mostrado en la tabla 11). Afortunadamente, la reacción proporcionó el ácido deseado **29a** como mezcla de diastereoisómeros (4:1) con una relación enantiomérica 85:15 y buenos rendimientos (85%). Esta reacción permite la reacción tándem ión iminio/platino/ión enamina (véase con detalle esquema 24). Para obtener la configuración absoluta por correlación química con un compuesto de configuración conocida en la bibliografía,<sup>155a,159</sup> se repitió la reacción pero tratando el crudo con (diazometil)trimetilsilil (segundo paso en el esquema mostrado en la tabla 11). Así, el ácido **29a** fue convertido en el diéster **30a** en un único paso “one-pot” con buenos rendimientos 78% (entrada 1, tabla 11). Los aldehidos **25b** (R = fenilo) y **25c** (R = 2-

**Tabla 11.** Reacción de la lactona **22** con distintos aldehídos  $\alpha,\beta$ -insaturados **25a-c**.<sup>a</sup>

Entrada	R	r.d. (Compuesto) <sup>b</sup>	r.e. <sup>c</sup>	Rdtos (%)	
				29a-c <sup>d</sup>	30a-c <sup>e</sup>
1	Me	4:1 ( <b>29a</b> )	85:15	85	78
2	Ph	3:1 ( <b>29b</b> )	92:8	nd <sup>f</sup>	40
3	2-furil	1:1 ( <b>29c</b> )	82:18	nd <sup>f</sup>	35

<sup>a</sup> La primera reacción fue realizada en una escala de 0,3 mmol de **22**, 0,45 mmol de **25a-j**, 1% mol de catalizador **1f**, 20 mol% del catalizador **26**, 20 mol% de DABCO y 50  $\mu$ l de agua en 0,3 mL de acetona durante 24-72 horas. La segunda reacción se llevó a cabo con 0,2 mmol de **29a-c** y 0,6 mmol de (diazometil)trimetilsilano en 0,2 mL de metanol y oscuridad durante 4 horas. <sup>b</sup> Las relaciones diastereoisoméricas (r.d.) se obtuvieron por la relación de las integrales de los protones más característicos de cada diastereoisómero en <sup>1</sup>H RMN. <sup>c</sup> La relación enantiomérica (r.e.) se midió por HPLC. <sup>d</sup> Rendimiento de los compuestos puros sin columnar. <sup>e</sup> Rendimiento después de realizar una cromatografía cromatográfica de columna. <sup>f</sup> No determinado.

<sup>d</sup> Al disminuir la carga del catalizador **26** (5-10% mol), se obtuvieron rendimientos bajos.

furilo) experimentaron la misma reacción para dar los diésteres **30b** y **30c** con rendimientos moderados y relaciones enantioméricas de moderadas a buenas (entrada 2 y 3, tabla 11). La configuración absoluta de los compuestos **30b**<sup>155a</sup> y **30c**<sup>159</sup> se obtuvo por correlación con compuestos descritos en la bibliografía al obtener valores de rotación óptica similares, por lo tanto, los compuestos **30a-c** presentan configuración *R*.

La configuración relativa del segundo centro quiral (centro que soporta al ácido) fue confirmada mediante la realización de un experimento NOESY (figura 27) donde se puede observar señal de correlación (rojo) de los protones del metilo del éster (a, singlete) y el metilo a 1,05 ppm en posición β al aldehído (b, doblete). Esto quiere decir que los protones del metilo del éster se encuentran cercanos a los protones del metilo en posición β al aldehído, por lo tanto, presentan la misma estereoquímica.

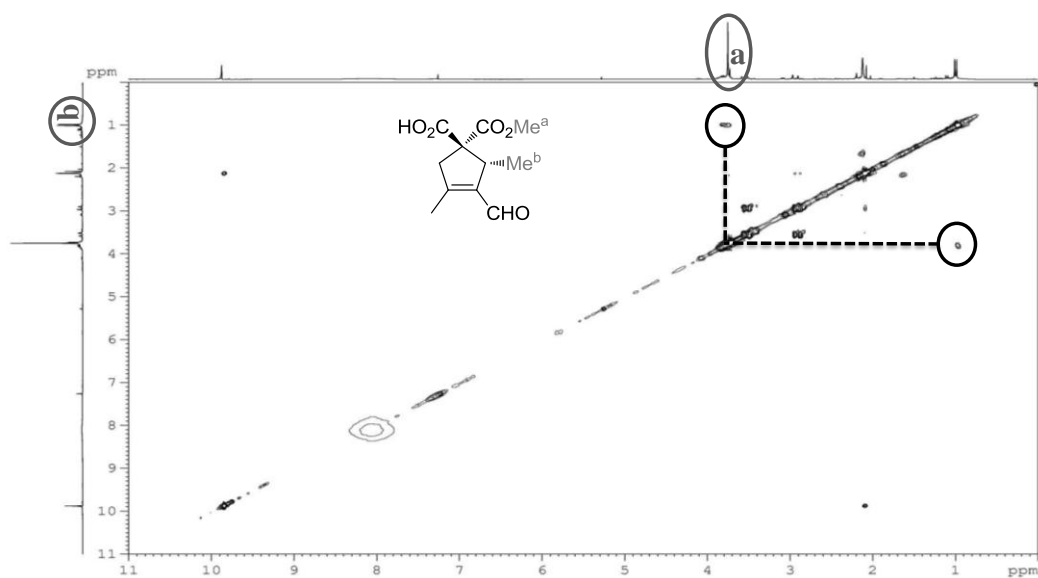


Figura 27

En el esquema 24 se describe el ciclo catalítico que tiene lugar para obtener los compuestos **30a-c**. Éste se inicia mediante la formación del ión iminio y el ataque al mismo por parte del enolato derivado de la lactona **22**. Una vez obtenido el intermedio **I**, éste es activado por un ácido de Lewis (el complejo de Pt) y atacado por una molécula de H<sub>2</sub>O para dar lugar a la cetona intermedio **II**, que de nuevo forma la enamina para intramolecularmente proporcionar el aldol **III** que se deshidrata formando los productos finales **30**.



Como conclusiones de los resultados obtenidos en este epígrafe, se puede afirmar que:

- El uso de cantidades catalíticas de los complejos de platino (1 mol%) es compatible con diferentes organocatalizadores como el DABCO o los diarilprolinoles (Jørgensen-Hayashi), siendo posible de este modo sintetizar lactonas con un centro cuaternario en el C-3 y una sustitución (metileno) en el C-5 de una manera sencilla.
- La utilización de estos complejos de platino es extremadamente eficaz siendo necesario solamente un 1 mol%, y permitiéndose su utilización en reacciones más complejas tipo *tándem*.

## 4.5. Parte experimental

### 4.5.1. Materiales e instrumentación

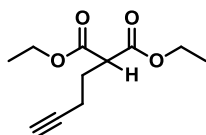
Se siguieron los procedimientos descritos en el epígrafe 2.5.1. Las rotaciones ópticas se determinaron en un polarímetro *Perkin-Elmer 241 MC* a temperatura ambiente (20-23°C). En cada caso se indican tanto el disolvente utilizado como la concentración *c* (g/100 mL). Los excesos enantioméricos fueron determinados por HPLC empleando columnas quirales Quiralcel IC y como fase móvil un sistema *n*-hexano/*i*-PrOH 90:10, con un flujo constante de 1,0 mL/min.

### 4.5.2. Síntesis de materiales de partida

Los materiales de partida comerciales y los disolventes se emplearon sin realizar ninguna purificación posterior. Los complejos de platino(II) **1f**,<sup>125</sup> **1p**<sup>83</sup> y **1q**<sup>85b</sup> y los complejos de platino(IV) **1k**<sup>95a</sup> y **1r**<sup>94</sup> se sintetizaron de acuerdo con los procedimientos encontrados en la bibliografía. El cisplatino **1b** y el catalizador de Jørgensen-Hayashi (**26**) se compraron en Sigma-Aldrich.

### Pent-3-en-1-ol (4k)

Bajo atmósfera inerte se añade sobre NaH (1,1 equivalentes), gota a gota y a 0 °C una disolución del malonato de dietilo (1 equivalente) en THF anhidro (10 mL). Una vez la reacción alcanza la temperatura ambiente, se adiciona el bromuro de propargilo. Cuando la reacción se completa (seguida por CCF), se trata con agua y se extrae con Et<sub>2</sub>O. La fase orgánica se seca con MgSO<sub>4</sub> anhidro y se concentra a vacío. Una vez realizada una columna cromatográfica (hexano/AcOEt 3:1) se consigue aislar el compuesto puro como aceite incoloro.



**Fórmula molecular:** C<sub>11</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>

**Rdto (%)** = 40

**<sup>1</sup>H RMN (300 Hz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 4,19 (c, *J* = 7,5 Hz, 4H), 3,54 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H), 2,28 (td, *J* = 7,1; 2,6 Hz, 2H), 2,10 (c, *J* = 7,1 Hz, 2H), 1,99 (t, *J* = 2,6 Hz, 1H), 1,26 (t, *J* = 7,1 Hz, 6H).

**<sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 168,9 (C), 82,4 (C), 70,0 (CH), 61,4 (CH<sub>2</sub>), 50,5 (CH), 27,3 (CH<sub>2</sub>), 16,3 (CH<sub>2</sub>), 14,0 (CH<sub>3</sub>).

**MS-ESI<sup>+</sup>:** [M+H]<sup>+</sup> calculado para C<sub>11</sub>H<sub>17</sub>O<sub>4</sub> 213,1126; encontrado 213,1124.

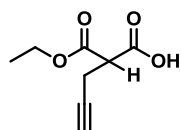


---

**Ácido 2-(etoxicarbonil)pent-4-inoico (2d)**


---

Sobre una disolución del ácido **2j** (2,2 mmol) en etanol (5 mL) se adiciona NaOH (2,4 mmol, 1,1 equivalentes). Durante dieciocho horas se mantiene la agitación a temperatura ambiente. Posteriormente, se añaden 10 mL de una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y la mezcla resultante se extrae con AcOEt (3 x 10 mL). Las fases acuosas se acidifican hasta pH 1 utilizando para ello HCl concentrado y extraen con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Las fases orgánicas se secan sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y concentran a presión reducida dando lugar al ácido **2d** puro como aceite incoloro.



**Fórmula molecular:** C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>

**Rdto (%)** = 83

<sup>1</sup>H RMN (300 Hz, CDCl<sub>3</sub>): δ 11,26 (sa, 1H), 4,18 (c, *J* = 7,1 Hz, 2H), 3,56 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 2,72 (ddd, *J* = 7,6; 2,5, 1.0 Hz, 2H), 1,99 (t, *J* = 2,6 Hz, 1H), 1,23 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H).

<sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 173,1 (C), 167,8 (C), 79,6 (C), 70,7 (CH), 62,2 (CH<sub>2</sub>), 51,0 (CH), 18,3 (CH<sub>2</sub>), 13,9 (CH<sub>3</sub>).

**MS-ESI<sup>+</sup>:** [M+H]<sup>+</sup> calculado para C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>O<sub>4</sub> 171,0657; encontrado 171,0656.

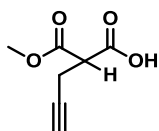
**4.5.2.1. Procedimiento general para la monohidrólisis de los malonatos sustituidos**

Sobre una disolución del sustrato correspondiente (2,2 mmol) en metanol (**2d**) o etanol (5 mL) se adiciona NaOH (2,4 mmol, 1,1 equivalentes). La mezcla de reacción se mantiene con agitación durante dieciocho horas a temperatura ambiente. Posteriormente, se añaden 10 mL de una disolución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y la mezcla resultante se extrae con AcOEt (3 x 10 mL). Las fases acuosas se acidifican hasta pH 1 utilizando para ello HCl concentrado y se extraen con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Las fases orgánicas se secan sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y concentran a presión reducida dando lugar a los ácidos puros.

---

**Ácido 2-(metoxicarbonil)pent-4-inoico (2j)**


---



**Fórmula molecular:** C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>

**Rdto (%)** = 91

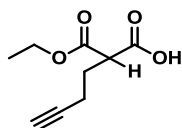
El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 4.5.2.1. como sólido blanco a partir del compuesto propargilmalonato de dimetilo (**4j**). P.f. (°C) = 94,9-95,3.

**<sup>1</sup>H RMN (300 Hz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 7,82 (sa, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,59 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H), 2,74 (dd, *J* = 7,4; 1,6 Hz, 2H), 1,99 (t, *J* = 2,5 Hz, 1H).

**<sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 172,8 (C), 168,2 (C), 79,5 (C), 70,8 (CH), 53,1 (CH<sub>3</sub>), 50,8 (CH), 18,4 (CH<sub>2</sub>).

**MS-ESI<sup>+</sup>:** [M+Na]<sup>+</sup> calculado para C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>NaO<sub>4</sub> 179,0322; encontrado 179,0314.

#### Ácido 2-(etoxicarbonil)hex-5-inoico (**2k**)



**Fórmula molecular:** C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub>

**Rdto (%)** = 87

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 4.5.2.1. como aceite incoloro a partir del compuesto 2-(but-3-inil)malonato de dietilo (**4k**).

**<sup>1</sup>H RMN (300 Hz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 9,93 (sa, 1H), 4,25 (c, *J* = 7,1 Hz, 2H), 3,65 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H), 2,34 (td, *J* = 6,8, 2,5 Hz, 2H), 2,15 (c, *J* = 7,1 Hz, 2H), 2,04 (t, *J* = 2,6 Hz, 1H), 1,31 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 174,4 (C), 168,8 (C), 82,1 (C), 70,0 (CH), 61,9 (CH<sub>2</sub>), 50,3 (CH), 27,3 (CH<sub>2</sub>), 16,3 (CH<sub>2</sub>), 13,9 (CH<sub>3</sub>).

**MS-ESI<sup>+</sup>:** [M+Na]<sup>+</sup> calculado para C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>NaO<sub>4</sub> 207,0627; encontrado 207,0627.

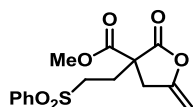
#### 4.5.3. Procedimiento general para la reacción de adición de Michael

A una disolución del ácido **2d** o **2j-k** (0,3 mmol) en acetona (0,3 mL) se adicionan el complejo de platino *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>] (**1f**) (0,003 mmol, 1 mol%), DABCO (0,06 mmol, 20 mol%), el correspondiente compuesto α,β-insaturado **18a-j** (0,45 mmol, 1,5 equivalentes) y 50 μl de agua. Después de completarse la reacción (seguida por CCF), la mezcla se concentra para dar lugar a un crudo que se purifica mediante columna cromatográfica (hexano/AcOEt 3:1) proporcionando los compuestos **19a-i** puros.

---

**5-Metileno-2-oxo-3-(2-fenilsulfonil)etil)tetrahidrofurano-3-carboxilato de metilo (19a)**


---


**Fórmula molecular:** C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>O<sub>6</sub>S

**Rdto (%)** = 69

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 4.5.3. como sólido blanco. P.f. (°C) = 105,2-105,9

**<sup>1</sup>H RMN (300 Hz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 7,93-7,89 (m, 2H), 7,71-7,66 (m, 1H), 7,62-7,56 (m, 2H), 4,84 (dt, *J* = 2,9, 2,0 Hz, 1H), 4,42 (dt, *J* = 3,2, 1,6 Hz, 1H), 3,75 (s, 3H), 3,42 (ddd, *J* = 13,9; 10,3; 6,3 Hz, 1H), 3,30 (dt, *J* = 16,6, 1,8 Hz, 1H), 3,19 (ddd, *J* = 13,9, 10,4, 6,1 Hz, 1H), 2,82 (dt, *J* = 16,6, 2,0 Hz, 1H), 2,33 (ddd, *J* = 17,7, 14,0, 6,0 Hz, 2H).

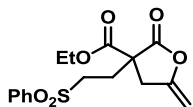
**<sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 171,4 (C), 168,6 (C), 151,6 (C), 138,4 (C), 134,1 (CH), 129,5 (CH), 128,1 (CH), 90,8 (CH<sub>2</sub>), 53,7 (CH<sub>3</sub>), 53,4 (C), 51,6 (CH<sub>2</sub>), 36,6 (CH<sub>2</sub>), 27,1 (CH<sub>2</sub>).

**MS-ESI<sup>+</sup>:** [M+Na]<sup>+</sup> calculado para C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>NaO<sub>6</sub>S 347,0565; encontrado 347,0565.

---

**5-Metileno-2-oxo-3-(2-fenilsulfonil)etil)tetrahidrofurano-3-carboxilato de etilo (19b)**


---


**Fórmula molecular:** C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub>S

**Rdto (%)** = 46

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 4.5.3. como sólido blanco. P.f. (°C) = 101,4-101,2.

**<sup>1</sup>H RMN (300 Hz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 7,84 (d, *J* = 7,1 Hz, 2H), 7,62 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H), 7,52 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 4,76 (dt, *J* = 2,9, 1,9 Hz, 1H), 4,35 (dt, *J* = 2,9, 1,5 Hz, 1H), 4,13 (c, *J* = 7,1 Hz, 2H), 3,37 (ddd, *J* = 13,9, 10,4, 6,2 Hz, 1H), 3,22 (dt, *J* = 16,5, 1,6 Hz, 1H), 3,13 (ddd, *J* = 13,9, 10,5, 6,1 Hz, 1H), 2,75 (dt, *J* = 16,5, 1,9 Hz, 1H), 2,25 (ddd, *J* = 17,4, 14,0, 6,0 Hz, 2H), 1,17 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H).

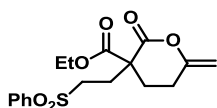
**<sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 171,4 (C), 168,1 (C), 151,6 (C), 138,6 (C), 134,1 (CH), 129,5 (CH), 128,1 (CH), 90,6 (CH<sub>2</sub>), 63,0 (CH<sub>2</sub>), 53,4 (C), 51,7 (CH<sub>2</sub>), 36,7 (CH<sub>2</sub>), 27,1 (CH<sub>2</sub>), 13,9 (CH<sub>3</sub>).

**MS-ESI<sup>+</sup>:** [M+H]<sup>+</sup> calculado para C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>O<sub>6</sub>S 339,0896; encontrado 339,0902.

---

**6-Metileno-2-oxo-3-(2-fenilsulfonil)etil)tetrahidro-2H-pirano-3-carboxilato de etilo (19c)**


---


**Fórmula molecular:**  $C_{17}H_{20}O_6S$ 
**Rdto (%) = 22**

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 4.5.3. como aceite incoloro.

**$^1H$  RMN (300 Hz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta$  7,83 (d,  $J = 7,2$  Hz, 2H), 7,61 (t,  $J = 7,4$  Hz, 1H), 7,51 (t,  $J = 7,5$  Hz, 2H), 4,64 (s, 1H), 4,29 (s, 1H), 4,13 (c,  $J = 7,1$  Hz, 2H), 3,43 (ddd,  $J = 13,7$ , 9,1, 7,1 Hz, 1H), 3,08 (ddd,  $J = 13,7$ , 10,9, 6,4 Hz, 1H), 2,56-2,46 (m, 2H), 2,30-2,16 (m, 2H), 1,69 (ddd,  $J = 13,6$ , 9,7, 7,3 Hz, 2H), 1,17 (t,  $J = 7,1$  Hz, 3H).

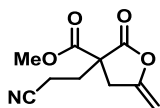
**$^{13}C$  RMN (75 MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta$  169,4 (C), 166,6 (C), 153,4 (C), 138,7 (C), 134,0 (CH), 129,4 (CH), 128,1 (CH), 96,0 ( $CH_2$ ), 62,8 ( $CH_2$ ), 53,1 (C), 52,0 ( $CH_2$ ), 28,7 ( $CH_2$ ), 28,1 ( $CH_2$ ), 24,0 ( $CH_2$ ), 14,0 ( $CH_3$ ).

**MS-ESI $^+$ :**  $[M+H]^+$  calculado para  $C_{17}H_{21}O_6S$  353,1053; encontrado 353,1054.

---

**3-(2-Cianoetil)-5-metileno-2-oxotetrahydrofurano-3-carboxilato de metilo (19d)**


---


**Fórmula molecular:**  $C_{10}H_{11}O_4$ 
**Rdto (%) = 70**

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 4.5.3. como aceite amarillo.

**$^1H$  RMN (300 Hz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta$  4,80 (s, 1H), 4,40 (s, 1H), 3,75 (s, 3H), 3,31 (d,  $J = 16,6$  Hz, 1H), 2,86 (d,  $J = 16,6$  Hz, 1H), 2,66-2,45 (m, 2H), 2,34-2,32 (m 2H).

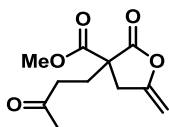
**$^{13}C$  RMN (75 MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta$  171,3 (C), 168,5 (C), 151,6 (C), 118,4 (C), 90,8 ( $CH_2$ ), 53,8 (C), 53,7 ( $CH_3$ ), 36,3 ( $CH_2$ ), 29,8 ( $CH_2$ ), 13,1 ( $CH_3$ ).

**MS-ESI $^+$ :**  $[M+Na]^+$  calculado para  $C_{10}H_{11}NaO_4$  232,0580; encontrado 232,0574.

---

**5-Metileno-2-oxo-(3-oxobutil)tetrahydrofurano-3-carboxilato de metilo (19e)**


---


**Fórmula molecular:**  $C_{11}H_{14}O_5$ 
**Rdto (%) = 71**

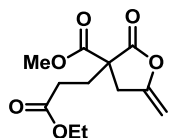
El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 4.5.3. como aceite amarillo.

**$^1\text{H}$  RMN (300 Hz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  4,75 (s, 1H), 4,33 (s, 1H), 3,72 (s, 3H), 3,26 (dt,  $J = 16,5$ , 1,5 Hz, 1H), 2,74 (dt,  $J = 16,5$ , 1,5 Hz, 1H), 2,70-2,43 (m, 2H), 2,16 (t,  $J = 7,6$  Hz, 2H), 2,09 (s, 3H).

**$^{13}\text{C}$  RMN (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  206,5 (C), 172,1 (C), 169,4 (C), 152,2 (C), 90,0 ( $\text{CH}_2$ ), 54,0 (C), 53,3 ( $\text{CH}_3$ ), 38,4 ( $\text{CH}_2$ ), 36,6 ( $\text{CH}_2$ ), 29,9 ( $\text{CH}_3$ ), 27,9 ( $\text{CH}_2$ ).

**MS-ESI $^+$ :**  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  calculado para  $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{NaO}_5$  249,0733; encontrado 249,0741.

### 3-(3-Etoxy-3-oxopropil)-5-metileno-2-oxotetrahidrofurano-3-carboxilato de metilo (19f)



**Fórmula molecular:**  $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_6$

**Rdto (%) = 66**

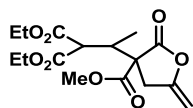
El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 4.5.3. como aceite incoloro.

**$^1\text{H}$  RMN (300 Hz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  4,84 (s, 1H), 4,43 (s, 1H), 4,16 (c,  $J = 7,1$  Hz, 2H), 3,82 (s, 3H), 3,38 (d,  $J = 16,5$  Hz, 1H), 2,86 (d,  $J = 16,5$  Hz, 1H), 2,61-2,50 (m, 1H), 2,46-2,24 (m, 3H), 1,28 (t,  $J = 7,1$  Hz, 3H).

**$^{13}\text{C}$  RMN (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  172,0 (C), 171,9 (C), 169,2 (C), 152,2 (C), 90,0 ( $\text{CH}_2$ ), 60,8 ( $\text{CH}_2$ ), 54,2 (C), 53,4 ( $\text{CH}_3$ ), 36,0 ( $\text{CH}_2$ ), 29,5 ( $\text{CH}_2$ ), 29,2 ( $\text{CH}_2$ ), 14,1 ( $\text{CH}_3$ ).

**MS-ESI $^+$ :**  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  calculado para  $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{NaO}_6$  279,0839; encontrado 279,0837.

### 2-(1-(3-(Metoxycarbonil)-5-metileno-2-oxotetrahidrofurano-3-il)etil)malonato de dietilo (19g/19g')



**Fórmula molecular:**  $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_8$

**Rdto (%) = 53**

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 4.5.3. como aceite incoloro.

**Isómero mayoritario**

**<sup>1</sup>H RMN (300 Hz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 4,80-4,77 (m, 1H), 4,40-4,38 (m, 1H), 4,25-4,12 (m, 4H), 3,78 (s, 3H), 3,57 (d, *J* = 5,7 Hz, 1H), 3,44-3,31 (m, 2H), 3,02 (dt, *J* = 17,0, 2,1 Hz, 1H), 1,30-1,23 (m, 6H), 1,10 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 171,5 (C), 168,6 (C), 168,4 (C), 168,1 (C), 152,9 (C), 89,6 (CH<sub>2</sub>), 62,0 (CH<sub>2</sub>), 61,7 (CH<sub>2</sub>), 59,4 (C), 53,7 (CH<sub>3</sub>), 53,4 (CH), 36,3 (CH), 31,8 (CH<sub>2</sub>), 14,2 (CH<sub>3</sub>), 14,1 (CH<sub>3</sub>), 13,1 (CH<sub>3</sub>).

#### Isómero minoritario

**<sup>1</sup>H RMN (300 Hz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 4,80-4,77 (m, 1H), 4,40-4,38 (m, 1H), 4,25-4,12 (m, 4H), 3,79 (s, 3H), 3,55 (d, *J* = 5,7 Hz, 1H), 3,44-3,31 (m, 2H), 3,00 (dt, *J* = 16,8, 2,3 Hz, 1H), 1,30-1,23 (m, 6H), 1,10 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H).

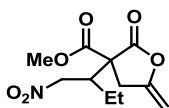
**<sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 171,0 (C), 168,5 (C), 168,4 (C), 168,2 (C), 152,8 (C), 89,6 (CH<sub>2</sub>), 62,1 (CH<sub>2</sub>), 61,8 (CH<sub>2</sub>), 59,7 (C), 53,9 (CH<sub>3</sub>), 53,1 (CH), 36,1 (CH), 32,0 (CH<sub>2</sub>), 14,0 (CH<sub>3</sub>), 13,9 (CH<sub>3</sub>), 13,8 (CH<sub>3</sub>).

**MS-ESI<sup>+</sup>:** [M+Na]<sup>+</sup> calculado para C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>NaO<sub>8</sub> 343,1393; encontrado 343,1390.

---

### 5-Metileno-3-(1-nitrobutan-2-il)-2-oxotetrahydrofurano-3-carboxilato de metilo (19h/19h')

---



**Fórmula molecular:** C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>6</sub>

**Rdto (%) = 30**

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 4.5.3. como sólido blanco. P.f. (°C) = 114,9-116,1.

#### Isómero mayoritario

**<sup>1</sup>H RMN (300 Hz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 4,80-4,77 (m, 1H), 4,63 (dd, *J* = 14,0; 4,2 Hz, 1H), 4,43 (dd, *J* = 14,0, 6,4 Hz, 1H), 4,38-4,34 (m, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,25 (dt, *J* = 17,0, 2,0 Hz, 1H), 3,00-2,90 (m, 1H), 2,90 (dt, *J* = 17,0, 2,0 Hz, 1H), 1,66 (ddC, *J* = 14,7, 7,4, 3,5 Hz, 1H), 1,46-1,27 (m, 1H), 0,95 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 170,9 (C), 168,9 (C), 151,6 (C), 90,4 (CH<sub>2</sub>), 76,0 (CH<sub>2</sub>), 57,7 (C), 53,7 (CH<sub>3</sub>), 41,9 (CH), 34,6 (CH<sub>2</sub>), 22,2 (CH<sub>2</sub>), 11,4 (CH<sub>3</sub>).

#### Isómero minoritario

**<sup>1</sup>H RMN (300 Hz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 4,80-4,68 (m, 2H), 4,48-4,35 (m, 2H), 3,76 (s, 3H), 3,39 (dt, *J* = 16,8, 1,7 Hz, 1H), 3,00-2,87 (m, 1H), 2,79 (dt, *J* = 16,8, 1,8 Hz, 1H), 1,46-1,27 (m, 2H), 0,97 (t, *J* = 7,6 Hz, 3H).

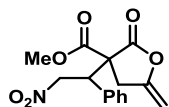
**$^{13}\text{C}$  RMN (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  170,9 (C), 168,9 (C), 151,9 (C), 90,2 ( $\text{CH}_2$ ), 75,3 ( $\text{CH}_2$ ), 58,2 (C), 53,7 ( $\text{CH}_3$ ), 42,4 (CH), 32,7 ( $\text{CH}_2$ ), 22,7 ( $\text{CH}_2$ ), 11,9 ( $\text{CH}_3$ ).

**MS-ESI $^+$ :**  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{NO}_6$  258,0972; encontrado 258,0976.

---

**5-Metileno-3-(2-nitro-1-feniletíl)-2-oxotetrahydrofurano-3-carboxilato de metilo (19i/19i')**

---



**Fórmula molecular:**  $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{NO}_6$

**Rdto (%) = 72**

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 4.5.3. como sólido blanco. P.f. ( $^{\circ}\text{C}$ ) = 114,9-116,1. El diastereoisómero minoritario **13i'** no pudo ser aislado.

**Isómero mayoritario**

**$^1\text{H}$  RMN (300 Hz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  7,35-7,31 (m, 3H), 7,26-7,22 (m, 2H), 5,25 (dd,  $J$  = 13,7, 10,9 Hz, 1H), 4,98 (dd,  $J$  = 13,7, 3,5 Hz, 1H), 4,58 (c,  $J$  = 2,4 Hz, 1H), 4,27 (dd,  $J$  = 10,8, 3,5 Hz, 1H), 4,10 (td,  $J$  = 3,2, 1,6 Hz, 1H), 3,85 (s, 3H), 3,09 (dt,  $J$  = 16,9, 1,6 Hz, 1H), 2,86 (dt,  $J$  = 16,9, 2,1 Hz, 1H).

**$^{13}\text{C}$  RMN (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  171,5 (C), 169,2 (C), 151,5 (C), 133,8 (C), 129,5 (CH), 129,2 (CH), 129,0 (CH), 90,1 ( $\text{CH}_2$ ), 76,6 ( $\text{CH}_2$ ), 57,8 (C), 54,0 ( $\text{CH}_3$ ), 46,6 (CH), 35,6 ( $\text{CH}_2$ ).

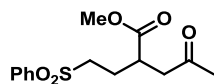
**MS-ESI $^+$ :**  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{NO}_6$  328,0797; encontrado 328,0784.

---

**6-Metileno-2-oxo-3-(2-fenilsulfonil)etil)tetrahydrofurano-3-carboxilato de etilo (21a)**

---

A una disolución del ácido **2j** (0,3 mmol) en acetona (0,3 mL) se adicionan el complejo de platino *cis*- $[\text{PtCl}_2(\text{DMSO})_2]$  (**1f**) (0,015 mmol, 5 mol%), DABCO (0,06 mmol, 20 mol%), la fenilvinilsulfona **18a** (0,45 mmol, 1,5 equivalente) y 250  $\mu\text{L}$  de agua. Durante 72 horas se mantiene la agitación a temperatura ambiente. Entonces, la mezcla se concentra para dar lugar a un crudo que se purifica mediante columna cromatográfica (hexano/AcOEt 1:1) proporcionando el compuesto **21a** puro como aceite amarillo.



**Fórmula molecular:**  $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{S}$

**Rdto (%) = 57**

**$^1\text{H}$  RMN (300 Hz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  7,83 (dt,  $J$  = 7,1, 1,7 Hz, 2H), 7,60 (tt,  $J$  = 7,4, 1,7 Hz, 1H),

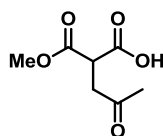
7,51 (tt,  $J = 7,4, 1,4$  Hz, 2H), 3,81 (t,  $J = 7,0$  Hz, 1H), 3,57 (s, 3H), 3,16-2,99 (m, 2H), 2,91-2,77 (m, 2H), 2,52-2,41 (m, 1H), 2,06 (s, 3H), 1,96-1,79 (m, 1H).

$^{13}\text{C}$  RMN (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  205,5 (C), 174,0 (C), 138,8 (C), 133,9 (CH), 129,4 (CH), 128,0 (CH), 53,9 ( $\text{CH}_2$ ), 52,1 ( $\text{CH}_3$ ), 44,7 ( $\text{CH}_2$ ), 38,5 (CH), 29,9 ( $\text{CH}_3$ ), 24,4 ( $\text{CH}_2$ ).

MS-ESI<sup>+</sup>:  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{NaO}_5\text{S}$  321,0773; encontrado 321,0755.

#### Ácido 2-(Metoxycarbonil)-4-oxopentanoico (23)

A una disolución del ácido **2j** (0,3 mmol) en acetona (0,3 mL) se adicionan el complejo de platino *cis*- $[\text{PtCl}_2(\text{DMSO})_2]$  (**1f**) (0,015 mmol, 5 mol%), DABCO (0,06 mmol, 20 mol%), la fenilvinilsulfona (0,45 mmol, 1,5 equivalente) y 250  $\mu\text{L}$  de agua. Durante 72 horas se mantiene la agitación a temperatura ambiente. Posteriormente, se añaden 3 mL de una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y la mezcla resultante se extrae con AcOEt (3 x 3 mL). Las fases acuosas se acidifican hasta pH 1 utilizando para ello HCl concentrado y extraen con AcOEt (3 x 3 mL), las fases orgánicas se secan sobre  $\text{MgSO}_4$  anhidro y concentran a presión reducida, dando lugar al ácido **23** puro como aceite amarillo.



Fórmula molecular:  $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_5$

Rdto (%) = 94

$^1\text{H}$  RMN (300 Hz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,31 (sa, 1H), 3,81 (t,  $J = 7,0$  Hz, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,03 (d,  $J = 7,0$  Hz, 2H), 2,15 (s, 3H).

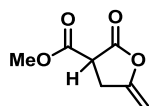
$^{13}\text{C}$  RMN (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  205,9 (C), 172,5 (C), 169,4 (C), 53,0 ( $\text{CH}_3$ ), 46,5 (CH), 41,9 ( $\text{CH}_2$ ), 29,6 ( $\text{CH}_3$ ).

MS-ESI<sup>+</sup>:  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_5$  197,0420; encontrado 197,0422.

#### Ácido 2-(Metoxycarbonil)-4-oxopentanoico (22)

A una disolución del ácido **2j** (0,3 mmol) en acetona (0,3 mL) se adicionan el complejo de platino *cis*- $[\text{PtCl}_2(\text{DMSO})_2]$  (**1f**) (0,003 mmol, 1 mol%) y 250  $\mu\text{L}$  de agua. Durante seis horas se mantiene la agitación a temperatura ambiente. Entonces, la mezcla se extrae con AcOEt (3 x 3 mL), las fases orgánicas se secan sobre  $\text{MgSO}_4$  anhidro y concentran a presión reducida dando lugar al ácido **22** puro como aceite amarillo.





**Fórmula molecular:** C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>

**Rdto (%)** = 94

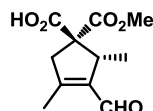
**<sup>1</sup>H RMN (300 Hz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 4,75 (c, *J* = 2,3 Hz, 1H), 4,35 (dt, *J* = 2,7, 1,8 Hz, 1H), 3,76 (s, 3H), 3,71 (dd, *J* = 10,4, 7,6 Hz, 1H), 3,24 (ddt, *J* = 16,7, 7,6, 2,1 Hz, 1H), 3,02 (ddt, *J* = 16,7, 10,4, 1,8 Hz, 1H).

**<sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 169,7 (C), 167,4 (C), 153,2 (C), 89,8 (CH<sub>2</sub>), 53,4 (CH), 46,2 (CH<sub>3</sub>), 29,3 (CH<sub>2</sub>).

**MS-ESI<sup>+</sup>:** [M+H]<sup>+</sup> calculado para C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub> 156,0423; encontrado 156,0425.

**Ácido (1*S*,2*R*)-3-formil-1-(metoxicarbonil)-2,4-dimetilciclopent-3-ene carboxílico (29a)**

A una solución de lactona **22** (0,3 mmol) en acetona (0,3 mL) se adicionan el complejo de platino *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>] (**1f**) (0,003 mmol, 1 mol%), DABCO (0,06 mmol, 20 mol%), el organocatalizador **26** (0,06 mmol, 20 mol%), el correspondiente aldehído α,β-insaturado **25a** (0,45 mmol, 1,5 equivalentes) y 50 μl de agua. De 24 a 72 horas se mantiene la agitación a temperatura ambiente. Entonces, se añaden 3 mL de una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y la mezcla resultante se extrae con AcOEt (3 x 3 mL). Las fases acuosas se acidifican hasta pH 1 utilizando para ello HCl concentrado y se extraen con AcOEt (3 x 3 mL), las fases orgánicas se secan sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro y concentran a presión reducida dando lugar al ácido **29a** como aceite amarillo. La configuración relativa fue confirmada gracias a la realización de un NOESY (figura 26).



**Fórmula molecular:** C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>O<sub>5</sub>

**Rdto (%)** = 94

**Isómero mayoritario**

**<sup>1</sup>H RMN (300 Hz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 9,87 (s, 1H), 8,06 (sa, 1H), 3,82 (c, *J* = 7,4 Hz, 1H), 3,75 (s, 3H), 3,55 (dq, *J* = 19,4, 1,4 Hz, 1H), 2,94 (d, *J* = 19,4 Hz, 1H), 2,12 (d, *J* = 1,4 Hz, 3H), 1,05 (d, *J* = 7,1 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 187,4 (CH), 176,0 (C), 169,8 (C), 157,9 (C), 139,8 (C), 62,1 (C), 52,8 (CH<sub>3</sub>), 45,5 (CH<sub>2</sub>), 43,6 (CH), 14,6 (CH<sub>3</sub>), 14,0 (CH<sub>3</sub>).

**Isómero minoritario**

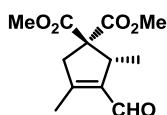
**<sup>1</sup>H RMN (300 Hz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 9,87 (s, 1H), 8,06 (sa, 1H), 3,89-3,42 (m, 1H), 3,74 (s,

3H), 3,51-3,42 (m, 1H), 2,90 (d,  $J = 19,4$  Hz, 1H), 2,08 (s, 3H), 1,11 (d,  $J = 7,1$  Hz, 3H).  
 $^{13}\text{C}$  RMN (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  187,4 (CH), 176,0 (C), 169,8 (C), 157,9 (C), 139,8 (C), 62,1 (C), 53,0 ( $\text{CH}_3$ ), 45,3 ( $\text{CH}_2$ ), 43,8 (CH), 14,6 ( $\text{CH}_3$ ), 14,0 ( $\text{CH}_3$ ).  
 MS-ESI $^+$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{O}_5$  227,0914; encontrado 227,0920.

#### 4.5.4. Procedimiento general para la síntesis de los diésteres 30a-c

A una disolución de la lactona **22** (0,3 mmol) en acetona (0,3 mL) se adicionan el complejo de platino *cis*- $[\text{PtCl}_2(\text{DMSO})_2]$  (**1f**) (0,003 mmol, 1 mol%), DABCO (0,06 mmol, 20 mol%), el organocatalizador **26** (0,06 mmol, 20 mol%), el correspondiente aldehído  $\alpha,\beta$ -insaturado **25a-c** (0,45 mmol, 1,5 equivalentes) y 50  $\mu\text{L}$  de agua. Durante 24-72 horas se mantiene la agitación a temperatura ambiente. Entonces, se añaden 3 mL de una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y la mezcla resultante se extrae con AcOEt (3 x 3 mL). Las fases acuosas se acidifican hasta pH 1 utilizando para ello HCl concentrado y extraen con AcOEt (3 x 3 mL), las fases orgánicas se secan sobre  $\text{MgSO}_4$  anhidro y concentran a presión reducida dando lugar a los ácidos **29a-c**. A una solución de estos ácidos **29a-c** (0,2 mmol) en metanol (0,2 mL) se añade gota a gota (diazometil)trimetilsilano (0,6 mmol, 3 equivalentes) y la mezcla resultante se agita durante 4 horas en oscuridad. Una vez terminada la reacción (seguida por CCF), se añaden 50  $\mu\text{L}$  de ácido acético glacial continuando con la agitación durante 30 minutos más. Seguidamente, la mezcla se extrae con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 x 3 mL) y la fase orgánica se lava tres veces con 3 mL de una disolución saturada de bicarbonato de sodio, se seca sobre  $\text{MgSO}_4$  anhidro y concentra a presión reducida dando lugar al crudo de reacción que se purifica utilizando columna cromatográfica (hexano/AcOEt 3:1) proporcionando los compuestos puros **30a-c**.

#### (R)-3-Formil-2,4-dimetilciclopent-3-ene-1,1-dicarboxilato de dimetilo (30a)



Fórmula molecular:  $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_5$

Rdto (%) = 78

$[\alpha]$  -108,9 ( $c = 1,0$  en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 4.5.3. como aceite amarillo. El exceso enantiomérico fue determinado por HPLC utilizando una columna quiral Quiralcel IC y como fase móvil un sistema *n*-hexano/*i*-PrOH 90:10, con un flujo constante de 1,0 mL/min y con tiempos de retención  $\tau_{\text{mayoritario}} = 41,1$  min. y  $\tau_{\text{minoritario}} = 37,1$  min. **r.e.** = 85:15

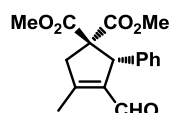
$^1\text{H}$  RMN (300 Hz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9,84 (s, 1H), 3,83 (c,  $J = 7,1$  Hz, 1H), 3,68 (s, 3H), 3,66 (s,

3H), 3,48 (d,  $J = 19,3$  Hz, 1H), 2,81 (d,  $J = 19,3$  Hz, 1H), 2,05 (s, 3H), 0,95 (d,  $J = 7,1$  Hz, 3H).

$^{13}\text{C}$  RMN (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  187,0 (CH), 171,8 (C), 170,0 (C), 156,9 (C), 140,0 (C), 62,2 (C), 53,0 ( $\text{CH}_3$ ), 52,6 ( $\text{CH}_3$ ), 45,6 ( $\text{CH}_2$ ), 43,6 (CH), 14,7 ( $\text{CH}_3$ ), 14,0 ( $\text{CH}_3$ ).

MS-ESI $^+$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{O}_5$  241,1070; encontrado 241,1072.

**(R)-3-Formil-4-metil-2-fenilciclopent-3-ene-1,1-dicarboxilato de dimetilo (30b)**<sup>155a</sup>



**Fórmula molecular:**  $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_5$

**Rdto (%)** = 40

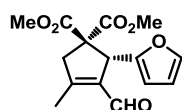
**$[\alpha]$**  -157,4 ( $c = 1,0$  en  $\text{CHCl}_3$ )

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 4.5.3. como aceite amarillo. El exceso enantiomérico fue determinado por HPLC utilizando una columna quiral Quiralcel IC y como fase móvil un sistema *n*-hexano/*i*-PrOH 90:10, con un flujo constante de 1,0 mL/min y con tiempos de retención  $\tau_{\text{mayoritario}} = 18,8$  min. y  $\tau_{\text{minoritario}} = 34,2$  min. **r.e.** = 92:8. El producto poseía características idénticas a las descritas en la bibliografía.<sup>153a</sup>

$^1\text{H}$  RMN (300 Hz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9,81 (s, 1H), 7,15-7,10 (m, 3H), 7,02-6,99 (m, 2H), 5,03 (s, 1H), 3,72 (d,  $J = 19,1$  Hz, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,08 (s, 3H), 2,88 (d,  $J = 19,6$  Hz, 1H), 2,20 (s, 3H).

$^{13}\text{C}$  RMN (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  185,9 (CH), 171,0 (C), 168,4 (C), 157,2 (C), 137,5 (C), 137,3 (C), 127,8 (CH), 127,4 (CH), 126,7 (CH), 62,9 (C), 54,7 (CH), 52,5 ( $\text{CH}_3$ ), 51,5 ( $\text{CH}_3$ ), 45,9 ( $\text{CH}_2$ ), 13,5 ( $\text{CH}_3$ ).

**(R)-3-Formil-2-(furan-2-il)-4-metil-3-ene-1,1-dicarboxilato de dimetilo (30c)**<sup>159</sup>



**Fórmula molecular:**  $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_5$

**Rdto (%)** = 35

**$[\alpha]$**  -207,6 ( $c = 1,0$  en  $\text{CHCl}_3$ )

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 4.5.3. como aceite amarillo. El exceso enantiomérico fue determinado por HPLC utilizando una columna quiral Quiralcel IC y como fase móvil un sistema *n*-hexano/*i*-PrOH 90:10, con un flujo constante de 1,0 mL/min y con tiempos de retención  $\tau_{\text{mayoritario}} = 42,2$  min. y  $\tau_{\text{minoritario}} = 29,5$  min. **r.e.** = 82:18. El producto poseía características idénticas a las descritas en la

bibliografía.<sup>157</sup>

**<sup>1</sup>H RMN (300 Hz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  9,88 (s, 1H), 7,16 (dd,  $J = 1,8, 0,8$  Hz, 1 H), 6,18 (dd,  $J = 3,2, 1,9$  Hz, 1H), 6,02 (dd,  $J = 3,2, 0,3$  Hz, 1H), 5,10 (s, 1H), 3,74-3,70 (m, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,38 (s, 3H), 2,92 (d,  $J = 19,4$  Hz, 1H), 2,22 (c,  $J = 1,0$  Hz, 3H).

#### 4.6. Bibliografía

- 146** (a) Hoffman, D. *Medicinal Herbalism: the Science and Practice of Gerbal Medicine* **2003**, publicado por Healing Arts Press, ISBN: 0-892-81749-6. (b) Editado por Vercruysse, J. y Rew, R. S. *Macrocyclic Lactones in Antiparasitic Therapy* **2002**, publicado por CAB International, ISBN: 0-85199-617-5. (c) Editado por Bajaj, Y. P. S. *Medicinal and Aromatic Plants XI: Biotechnology in Agriculture and Forestry* **1999**, publicado por Springer-Verlag, ISBN: 3-540-63911-X.
- 147** (a) Correa, D. H. A.; Melo, P. S.; de Carvalho, C. A. A.; de Azevedo, M. B. M.; Durán, N. y Haun, M. *Eur. J. Pharmacol.* **2005**, *510*, 17-24. (b) Melo, P. S.; Justo, G. Z.; Durán, N. y Haun, M. *Eur. J. Pharmacol.* **2004**, *487*, 47-54. (c) Agner, A. R.; Maciel, M. A. M.; Pinto, A. C.; Pamplona, S. G. S. R. y Colus, I. M. S. *Teratog. Carcinog. Mutagen.* **1999**, *19*, 377-384.
- 148** (a) Silva, R. M.; Oliveira, F. A.; Cunha, K. M. A.; Maia, J. L.; Maciel, M. A. M.; Pinto, A. C.; Nascimento, N. R. F.; Santos, F. A. y Rao, V. S. N. *Vasc. Pharmacol.* **2005**, *43*, 11-18. (b) Guerrero, M. F.; Puebla, P.; Carrón, R.; Martín, M. L. y San Román, L. *J. Ethnopharmacol.* **2004**, *94*, 185-189. (c) Guerrero, M. F.; Puebla, P.; Carrón, R.; Martín, M. L. y Román, L. S. *J. Pharm. Pharmacol.* **2002**, *54*, 1373-1378.
- 149** (a) Luther, J. M.; Luo, P.; Wang, Z.; Cohen, S. E.; Kim, H. S.; Fogo, A. B. y Brown, N. J. *Kidney Int.* **2012**, *82*, 643-651. (b) [http://www.vademecum.es/medicamento-aldactone\\_prospecto\\_39059](http://www.vademecum.es/medicamento-aldactone_prospecto_39059) (c) también presenta actividad cardioprotectora: Clark, D. 3rd; Ahmed, M. I.; Calhoun, D. A. *Can. J. Cardiol.* **2012**, *28*, 318-325.
- 150** Herath, H. M.; Herath, W. H.; Carvalho, P.; Khan, S. I.; Tekwani, B. L.; Duke, S. O.; Tomaso-Peterson, M. y Nanayakkara, N. P. *J. Nat. Prod.* **2009**, *72*, 2091-2097.
- 151** (a) Fukuyama, Y.; Kubo, M.; Esumi, T.; Harada, K. y Hioki, H. *Heterocycles* **2010**, *81*, 1571-1602. (b) Vaudry, D.; Stork, P. J. S.; Lazarovici, p. y Eiden, L. E. *Science*, **2002**, *296*, 1648-1649. (c) Brinton, R. D. y Yamazaki, R. S. *Pharm. Res.* **1998**, *15*, 386-398.
- 152** (a) Bertelsen, S. y Jørgensen, K. A. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 2178-2189. (b) editado por Dalko, P. I. *Enantioselective Organocatalysis* **2007**, publicado por Wiley-VCH, ISBN: 3-527-31522-5. (c) Hayashi, Y. *Synth. Org. Chem. Jpn.* **2005**, *63*, 464-477. (d) Berkessel, A. y Gröger, H. *Asymmetric Organocatalysis: From Biomimetic Concepts to Applications in Asymmetric Synthesis* **2005**, publicado por Wiley-VCH, ISBN: 3-527-30517-3. (e) Dalko, P. I. y Moisan, L. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, *43*, 5138-5175.

- 153** (a) Crabtree, R. H. *The Organometallic Chemistry of the Transition Metals* **2009**, publicado por John Wiley & Sons, ISBN: 0-470-25762-8. (b) editado por Beller, M. y Bolm, C. *Transition Metals for Organic Synthesis: Building Blocks and Fine Chemicals* **2004**, volume 1 y 2, publicado por Wiley-VCH, ISBN: 3-527-30613-7.
- 154** Para reviews recientes sobre la combinación de catalizadores orgánicos y metálicos, véase: (a) de Armas, P.; Tejedor, D. y García-Tellado, F. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **2010**, *49*, 1013-1016. (b) Rueping, M.; Koenigs, R. M. y Atodiresei, I. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 9350-9365. (c) Zhong, C. y Shi, X. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 2999-3025. (d) Klussmann, M. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, *48*, 7124-7125. (e) Shao, Z. y Zhang, H. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 2745-2755.
- 155** (a) Zhao, G.-L.; Ullah, F.; Deiana, L.; Lin, S.; Zhang, Q.; Sun, J.; Ibrahim, I.; Dziedzic, P. y Córdova, A. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 1585-1591. (b) Jensen, K. L.; Franke, P. T.; Arróniz, C.; Kobbelgaard, S. y Jørgensen, K. A. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 1750-1753. (c) Yang, T.; Ferrali, A.; Campbell, L. y Dixon, D. J. *Chem. Commun.* **2008**, 2923-2925.
- 156** (a) Konishi, H.; Lam, T. Y.; Malerich, J. P. y Rawal, V. H. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 2028-2031. (b) Jiang, H.; Paixao, M. W.; Monge, D. y Jørgensen, K. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 2775-2783. (c) Poulsen, T. B.; Bernardi, L.; Alemán, J.; Overgaard, J. y Jørgensen, K. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 441-449.
- 157** Bordwell, F.G. *Acc. Chem. Res.* **1988**, *21*, 456-463.
- 158** Para ejemplos recientes, véase: (a) Muratore, M. E.; Holloway, C. A.; Pilling, A. W.; Storer, R. I.; Trevitt, G. y Dixon, D. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 10796-10797. (b) Singh, P. R.; Surpur, M. P. y Patil, S. B. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 3335-3340. (c) Campos, K. R.; Woo, J. C. S.; Lee, S. y Tillyer, R. D. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 79-82.
- 159** Yu, C.; Zhang, Y.; Zhang, S.; He, J. y Wang, W. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 1742-1744.

## **CAPÍTULO 5**

*Síntesis y Evaluación Biológica de Nuevos Complejos  
Trans de Platino(II) con Ligandos Sulfonamida*





### 5.1. Objetivos y antecedentes

El objetivo del presente capítulo es la obtención de una nueva familia de compuestos *trans* de platino(II) con ligandos sulfonamida y la determinación de las actividades citotóxicas de los mismos.

Las *N*-sulfonamidas se han utilizado ampliamente en química médica.<sup>160</sup> Inicialmente se emplearon como agentes antibacterianos (por ejemplo, los medicamentos de sulfa, como el Bactrim<sup>TM</sup>), posteriormente, se les han reconocido otras muchas propiedades; así, pueden actuar como inhibidores de la enzima anhidrasa carbónica (Sultiane),<sup>161</sup> inhibidores de la histona deacetilasa,<sup>162</sup> inhibidores de la polimerización de los microtúbulos,<sup>163</sup> antagonistas de la LHRH<sup>164</sup> (hormona liberadora de hormona luteinizante) o como agentes utilizados en PET (tomografía por emisión de positrones) para visualizar la polimerización de la tubulina en células cancerosas.<sup>165</sup> Algunos tipos de sulfonamidas están recogidos en la figura 28.

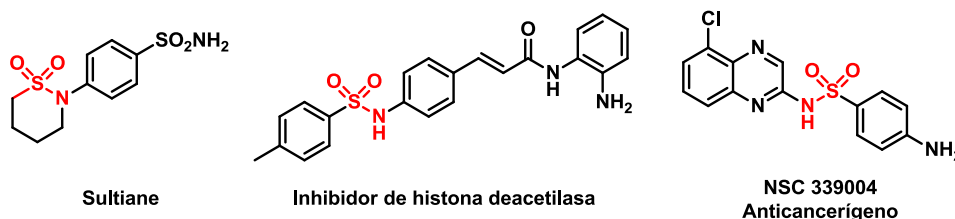


Figura 28

Sorprendentemente, la utilización de estas *N*-sulfonamidas como ligandos en la síntesis de complejos de platino ha recibido muy poca atención, aunque en principio la unión de un complejo de platino y una sulfonamida, podría suponer una mejoría en la actividad antitumoral de los complejos resultantes. En la bibliografía se recogen solamente cuatro complejos de platino conteniendo en su estructura sulfonamidas con geometría *cis*, los cuales no han sido evaluados en ensayos biológicos.<sup>166</sup> Algunos de esos compuestos están representados en la figura 29. Entre ellos, Cagné *et al* en 1999 describieron la síntesis de complejos de platino quirales con ligandos bissulfonamida (**a**). A pesar de que obtuvieron un número interesante de complejos, no se realizó ninguna evaluación de sus propiedades biológicas.<sup>166d</sup> Posteriormente, Henderson *et al.* sintetizaron complejos de platino con bissulfonamidas similares a los anteriores, cuyas diferencias radicaban en la presencia de pequeños cambios en la estructura química de las bisulfonamidas (**b**).<sup>166c</sup> Recientemente, Marzilli *et al.* han publicado la síntesis de poliaminas con una *N*-sulfonamida con características fluoróforas (**c**) y aunque estudiaron

la interacción de los complejos con varias biomoléculas, tampoco evaluaron las propiedades antitumorales de los compuestos sintetizados.<sup>166b</sup> Finalmente, Goldberg *et al.* publicaron la síntesis de complejos de platino(IV) con sulfonamidas como ligandos para realizar estudios mecanísticos (d).<sup>166a</sup>

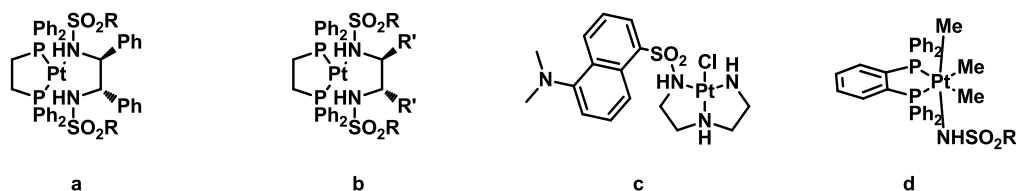
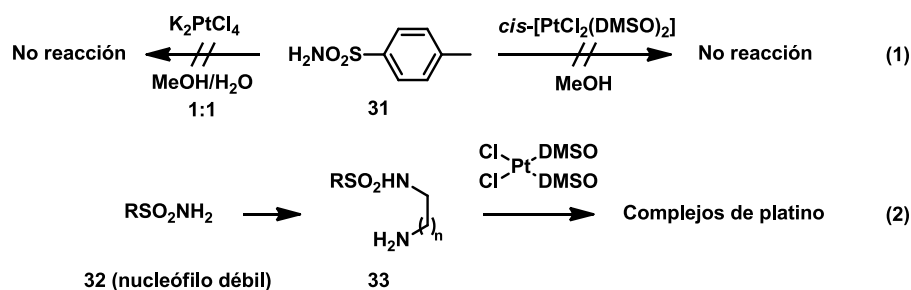


Figura 29

## 5.2. Síntesis de complejos trans de platino con un ligando sulfonamida

Nuestra primera aproximación a la síntesis de complejos de platino con sulfonamidas fue la reacción directa de la *N*-sulfonamida comercial **31** con  $K_2PtCl_4$  y *cis*- $[PtCl_2(DMSO)_2]$ . Sin embargo, no se observó reacción en ninguno de los dos casos debido probablemente a la baja nucleofilia del nitrógeno de la *N*-sulfonamida **31** (ecuación 1, esquema 25), por lo que pensamos que teniendo un nucleófilo más reactivo se podrían formar los complejos deseados. Nosotros nos planteamos la síntesis de la aminosulfonamida **33** (ecuación 2, esquema 25) que al tener un grupo amina primaria, podría coordinarse mejor al platino electrófilo.

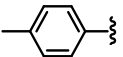
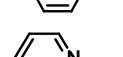
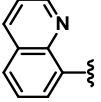
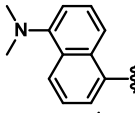
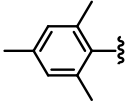


Esquema 25

Con este planteamiento, comenzamos la síntesis de las *N*-sulfonamidas lineales **35a-e** recogidas en la tabla 12. Los sustituyentes elegidos comprendían diferentes grupos aromáticos como el *p*-tolilo (**34a**), el mesitilo (**34b**), el dansilo (**34d**) y la quinolina (**34c**). De este modo, tras la adición de la diamina **33a** a una disolución diluida del cloruro de tosilato **34a** en diclorometano a cero grados centígrados, se pudo aislar con buenos rendimientos la mono-sulfonamida deseada **35a** (tabla 12). La síntesis de los demás

ligandos se realizó empleando el mismo procedimiento, consiguiendo, de este modo, aislar los compuestos **35a-e** indicados en la tabla 12 y obteniendo, así mismo, una metodología general para la síntesis de monosulfonamidas, con buenos rendimientos a escala multigramo y sin necesidad de realizar una columna cromatográfica, ya que la adición de agua, al medio de reacción, provocaba la precipitación de las sulfonamidas pudiéndose aislar por filtración.

**Tabla 12.** Síntesis de *N*-etilendiamina y *N*-propilendiaminasulfonamidas **35a-e**.<sup>a</sup>

$  \begin{array}{ccc}  \text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2 & & \text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{SO}_2\text{R} \\  \text{33a } n = 1 & & \text{35a-d} \\  \text{33b } n = 2 & & \\  \text{R-SO}_2\text{Cl} & \xrightarrow[\text{CH}_2\text{Cl}_2, 0^\circ\text{C}]{\text{33a } n = 1, \text{ 33b } n = 2} & \\  \text{34a-d} & &   \end{array}  $					
Entrada	Cloruro de sulfonilo	R	n	Ligando	Rdto (%) <sup>b</sup>
1	<b>34a</b>		1	<b>35a</b>	73
2			2	<b>35b</b>	84
3	<b>34b</b>		1	<b>35c</b>	80
4	<b>34c</b>		1	<b>35d</b>	89
5	<b>34d</b>		2	<b>35e</b>	76

<sup>a</sup> Todas las reacciones fueron llevadas a cabo con 0,1 M del cloruro de sulfonilo correspondiente (26 mmol) y 3 M de diamina (260 mmol) a 0 °C durante 3 horas y a temperatura ambiente. <sup>b</sup> Rendimiento de producto aislado tras precipitación en agua. Véase parte experimental.

Por otro lado, decidimos sintetizar también ligandos conteniendo una diamina cíclica como la (*rac*)-(*trans*)-1,2-ciclohexildiamina, debido a que en la bibliografía se recogen varios fármacos basados en platino con dicha diamina en su estructura. Como ejemplos de este tipo de fármacos tenemos, el oxaliplatino y el ormaplatino que están representados en la tabla 1 del capítulo 1, y el aroplatino y el TRK-710 (figura 30) que actualmente se encuentran en fase clínica II.

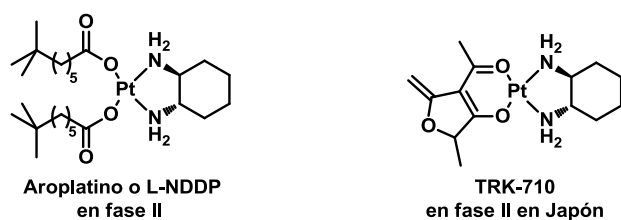


Figura 30

Así, después de realizar la correspondiente purificación por precipitación y lavado con agua fría se obtuvieron las *N*-sulfonamidas cíclicas con buenos rendimientos (tabla 13).

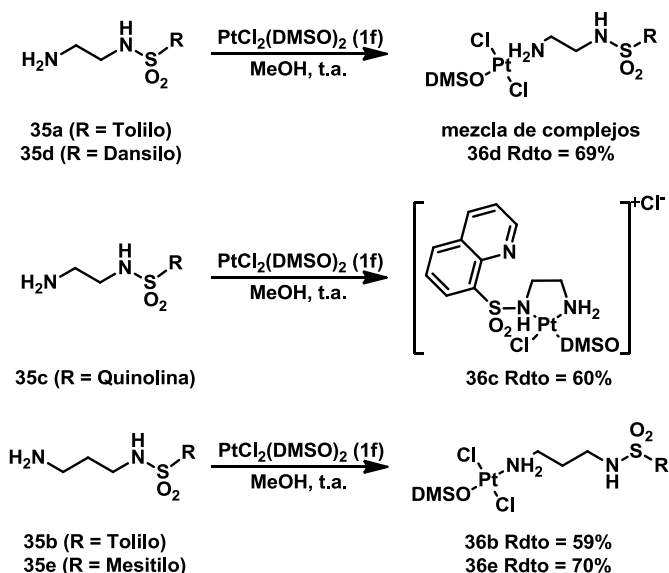
Tabla 13. Síntesis de ligandos cíclicos monosulfonamida **35f-g**.<sup>a</sup>

<p style="text-align: center;">34a y 34d                      35f-g</p>				
Entrada	Cloruro de sulfonilo	R	Ligando	Rdto (%) <sup>b</sup>
1	34a		35f	82
2	34d		35g	66

<sup>a</sup> Todas las reacciones fueron llevadas a cabo con 0,1 M del cloruro de sulfonilo correspondiente (26 mmol) y 3 M de diamina (260 mmol) a 0 °C durante 3 horas y a temperatura ambiente hasta 24 horas. <sup>b</sup> Rendimiento de producto aislado tras cristalización en agua/MeOH 1:1.

Una vez obtenidos los ligandos **35a-g**, se realizó la síntesis de los correspondientes complejos de platino **36a-f**. Por tanto, se comenzó empleando un método, representado en el esquema 26, que consistía en adicionar las *N*-sulfonamidas **35a-e** a una suspensión de *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>] (**1f**) en metanol a temperatura ambiente, originando, en la mayoría de los casos, después de 48-64 horas, un precipitado amarillo. Excepto el complejo de platino **36a** que se obtuvo como una mezcla inseparables de compuestos, los compuestos **36b-e** fueron obtenidos puros y con buenos rendimientos siguiendo distintos métodos de purificación (véase parte experimental para más detalle). Interesantemente, en el caso del lignado (R = quinolina) la reacción dió lugar a un compuesto cíclico determinado por el espectro de masas ESI<sup>+</sup>, donde se puede observar el pico molecular a

559,0126  $m/z$  ( $M^+$ ), además de aquellos correspondientes a sus distintas fragmentaciones 522,0366  $m/z$  ( $M^+ - Cl^- - H^+$ ), 481,0017  $m/z$  ( $M^+ - DMSO$ ) y 444,0211  $m/z$  ( $M^+ - Cl^- - DMSO - H^+$ ).



Esquema 26

La configuración *trans* de estos nuevos complejos fue determinada por el análisis de difracción de rayos X (figura 31) del compuesto **36e** así como por la comparación de los espectros de este compuesto con los obtenidos de los complejos **36b-d** empleando distintas técnicas espectroscópicas ( $^{195}\text{Pt}$ ,  $^1\text{H}$ -RMN y  $^{13}\text{C}$ -RMN),

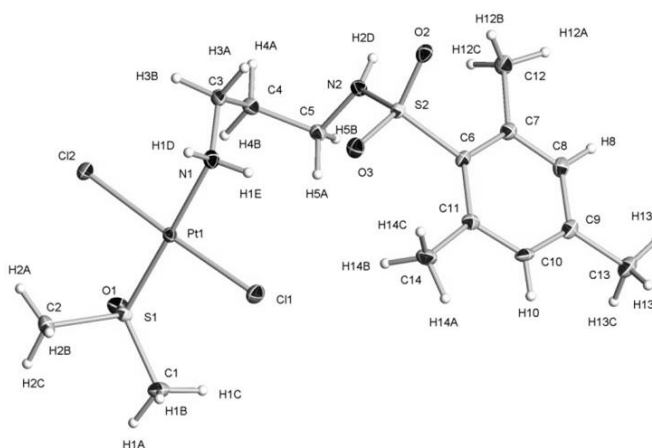


Figura 31

Los datos cristalográficos correspondientes al cristal se hallan en la tabla 14, mientras que algunas longitudes de enlace y los ángulos más característicos están recogidos en la tabla 15. Como se puede observar, la estructura tiene una geometría plano-cuadrada, aunque con alguna desviación con respecto a la idealidad (por ejemplo, el ángulo (S1)-Pt(1)-Cl(1) es 94,37°).

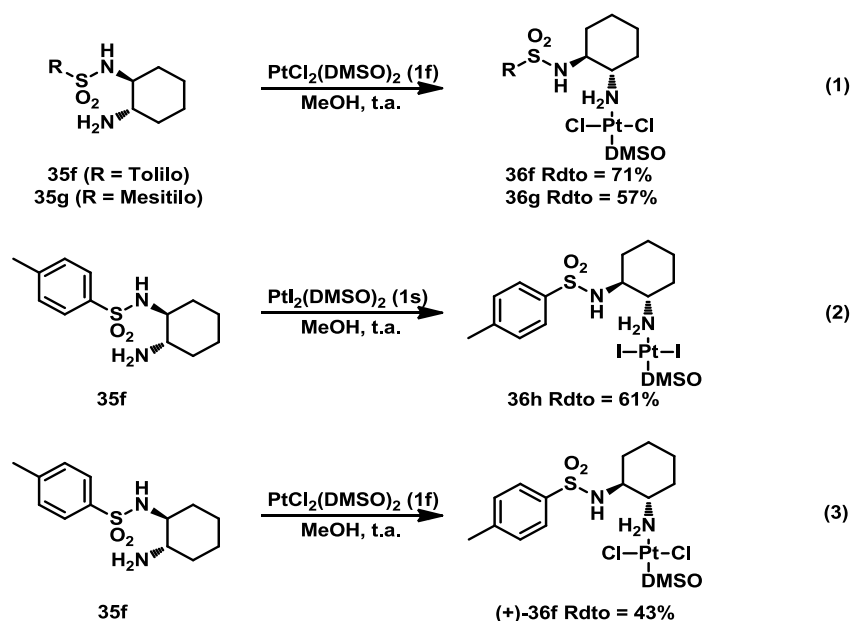
**Tabla 14.** Datos cristalográficos del compuesto **36e**.

Fórmula empírica	C <sub>14</sub> H <sub>26</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> PtS <sub>2</sub>	Densidad calculada	2,005 Mg/m <sup>3</sup>
Peso molecular	600,48	μ(Mo Ka)	7,548 mm <sup>-1</sup>
Longitud de onda	0,71073 Å	F(000)	584
Simetría	Triclínico	Intervalo de θ	2,47-26,37°
Grupo espacial	P-1	Reflexiones recogidas	40543
Z	2	Reflexiones observadas	4005
Parámetros celdilla	a (Å) 7,9973(4)	Integridad de θ = 26,37°	98,8 %
	b (Å) 10,8873(6)	Transmisión max. y min.	0,7040 y 0,3136
	c (Å) 11,5879(6)	Índices R finales [I > 2σ(I)]	
	α (°) 95,196(3)	Bondad del ajuste, S	1,092
	β (°) 98,091(3)	R <sub>1</sub>	0,0126
	γ (°) 90,511(3)	wR <sub>2</sub>	0,0307
Volumen	994,56(9) Å <sup>3</sup>	Densidad residual ρ <sub>max</sub> ρ <sub>min</sub>	0,919, -0,481 e Å <sup>-3</sup>

**Tabla 15.** Distancias (Å) y ángulos (°) mas significativos del complejo **36e**.

Átomos	Distancia (Å)	Átomos	Ángulos (°)
Pt(1)-N(1)	2,0692(19)	N(1)-Pt(1)-S(1)	178,82(6)
Pt(1)-S(1)	2,2138(5)	N(1)-Pt(1)-Cl(1)	86,73(6)
Pt(1)-Cl(1)	2,2867(6)	S(1)-Pt(1)-Cl(1)	94,37(2)
Pt(1)-Cl(2)	2,3072(6)	N(1)-Pt(1)-Cl(2)	90,51(6)
-	-	S(1)-Pt(1)-Cl(2)	88,39(2)
-	-	Cl(1)-Pt(1)-Cl(2)	177,22(2)
-	-	O(1)-S(1)-Pt(1)	116,31(7)
-	-	C(2)-S(1)-Pt(1)	108,78(8)
-	-	Pt(1)-N(1)-H(1D)	106,8(18)
-	-	Pt(1)-N(1)-H(1E)	106,5(16)
-	-	C(3)-N(1)-Pt(1)	118,31(14)

La síntesis de los complejos de sulfonamida con ligandos ciclohexildiamina **36f-g** fueron obtenidos de una manera similar a los compuestos lineales. En el esquema 27 se describe de forma resumida el método sintético empleado para la obtención de dichos complejos (ecuación 1). Por otro lado, otro aspecto que estudiamos fue el efecto que ejerce el halógeno sobre la actividad biológica de los complejos de platino (complejo **36h**, ecuación 2), ya que se ha descrito que los complejos con ioduros presentan propiedades biológicas distintas a los correspondientes complejos con cloruros.<sup>86</sup> Por último, se quiso evaluar la influencia de la quiralidad en la actividad antiproliferativa para lo que se sintetizó el complejo ópticamente puro **36f** (ecuación 3).



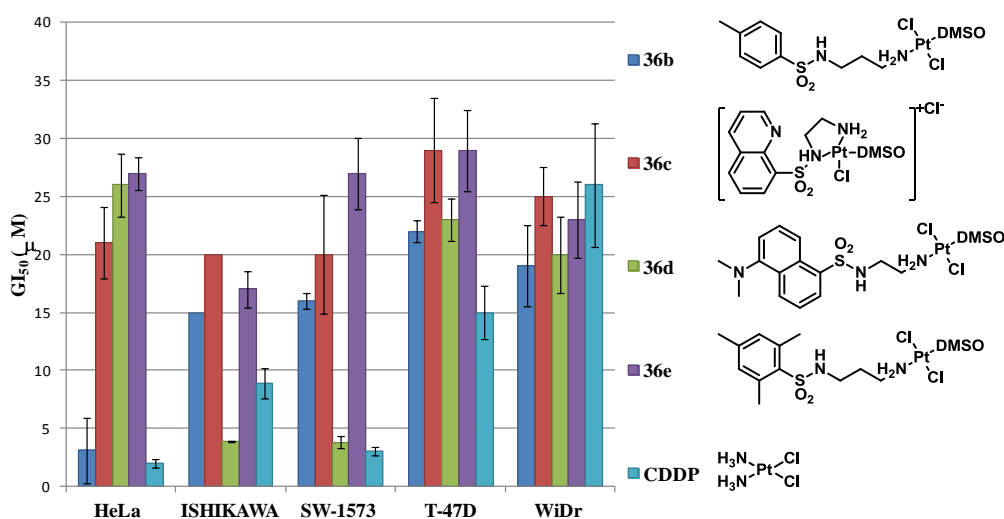
Esquema 27

### 5.3. Evaluación citotóxica

La actividad antiproliferativa de **36b-h** fue evaluada *in vitro* contra un panel de líneas celulares tumorales humanas incluyendo HeLa (adenocarcinoma de cérvix), SW-1573 (carcinoma alveolar de pulmón), ISHIKAWA (adenocarcinoma de endometrio), T-47D (carcinoma ductal de mama) y WiDr (adenocarcinoma colorrectal). Así mismo, para determinar la inhibición del crecimiento al 50% fue utilizando el ensayo colorimétrico de la sulforodamina B.<sup>167</sup> Los valores experimentales de  $GI_{50}$  de los compuestos junto con los del cisplatino están recogidos en la tabla 17 en la parte experimental de este capítulo. Para tener una comparación clara entre los complejos sintetizados se han contrastado las

citotoxicidades en función de los sustituyentes de la diamina, además de que la diamina sea línea o cíclica, de que el complejo tenga cloruros o ioduros en su estructura o de que la amina elegida sea lineal o racémica (gráficas 1-5).

En la gráfica 1 se muestra la actividad antiproliferativa de los complejos **36b-f** y se compararon con el CDDP, mostrando que la mayoría de ellos presentan citotoxicidades moderadas en las líneas celulares ensayadas. Los compuestos con anillos aromáticos como el mesitilo o con heteroátomos como la quinolina muestran, en general, las peores actividades biológicas, mientras que los complejos **36d** y **36b** con grupos electrón donores (NMe<sub>2</sub>) y el grupo toliilo, muestran mejores valores de GI<sub>50</sub> y, en algunos casos, mejores que el cisplatino (por ejemplo, el complejo **37d** en la células ISHIKAWA y los compuestos **37b-e** en la línea celular WiDr).

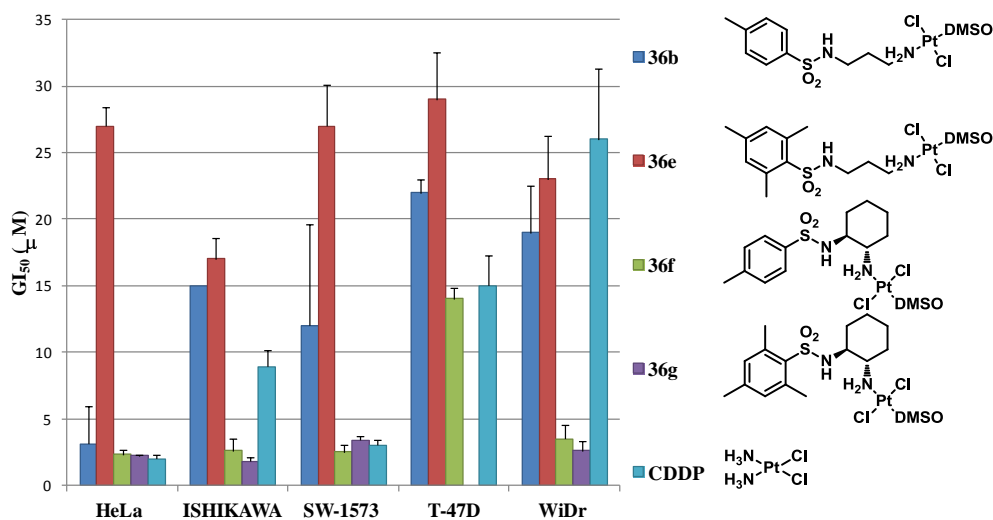


Gráfica 1

En la gráfica 2 se compara el perfil de actividades de los complejos con sulfonamidas cíclicas **36f-g** y los correspondientes con la cadena lineal **36d-e**. Como se puede observar hay una notable mayor actividad de los complejos de cadena circular en todas las líneas celulares ensayadas en comparación con los de la cadena abierta. Los compuestos **36f-g** con los grupos toliilo y mesitilo, respectivamente (verde y violeta), tienen menores valores de GI<sub>50</sub> comparados con los de los compuestos cíclicos análogos **36d-e**. Incluso, el compuesto **36f** muestra una mayor citotoxicidad que el cisplatino en casi todas las líneas celulares. Por tanto, de esta gráfica 2 se concluye que la

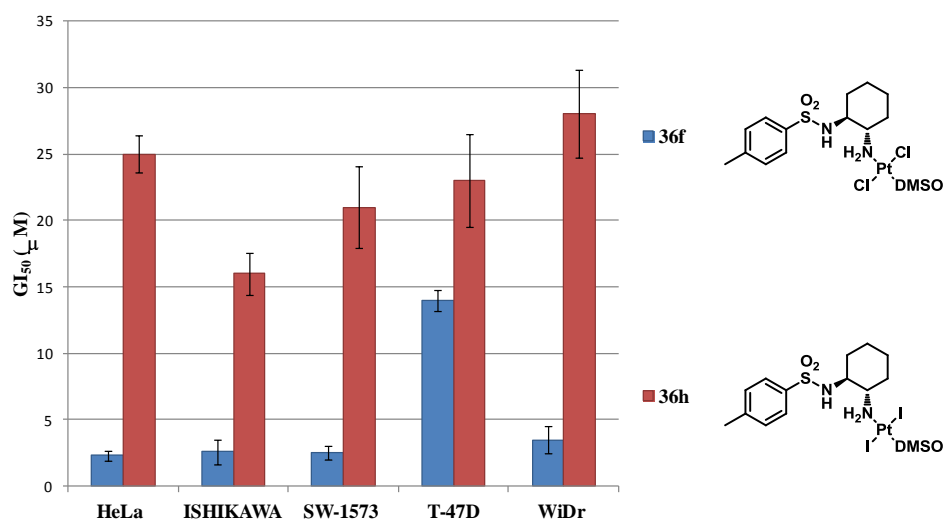


ciclohexildiamina como precursor para distintos ligandos, es mejor que los correspondientes con cadenas lineales.



Gráfica 2

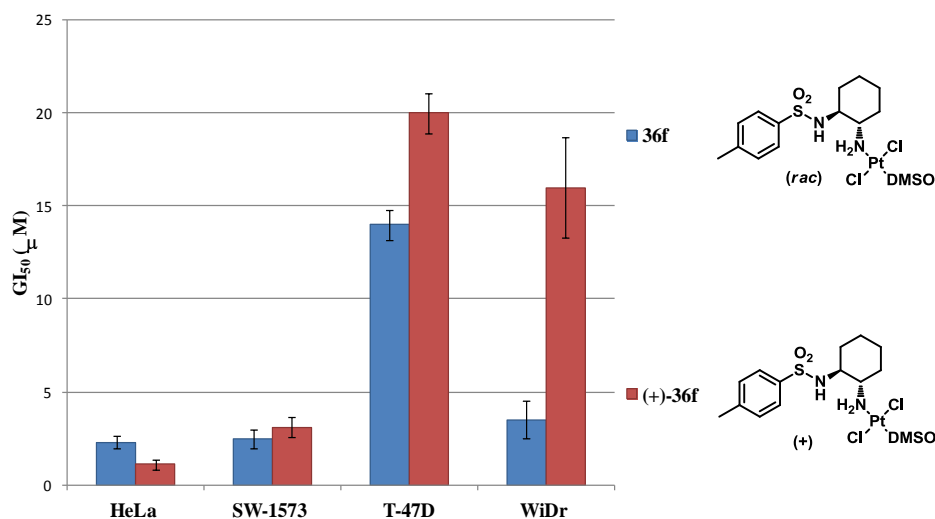
Desde que en los últimos años nuestro grupo de investigación ha centrado su atención en la síntesis de complejos con ioduros, pensamos también en estudiar la actividad citotóxica del complejo **36h**. De este modo, el compuesto cloro derivado **36f** y



Gráfica 3

el complejo **36h** fueron ensayados en las líneas celulares anteriormente descritas, y en todas ellas, el complejo con cloruros (**36f**) mostraba mayores citotoxicidades que el **36h** (gráfica 3). Por tanto, queda demostrado que los complejos con cloruros proporcionan una mejor citotoxicidad.

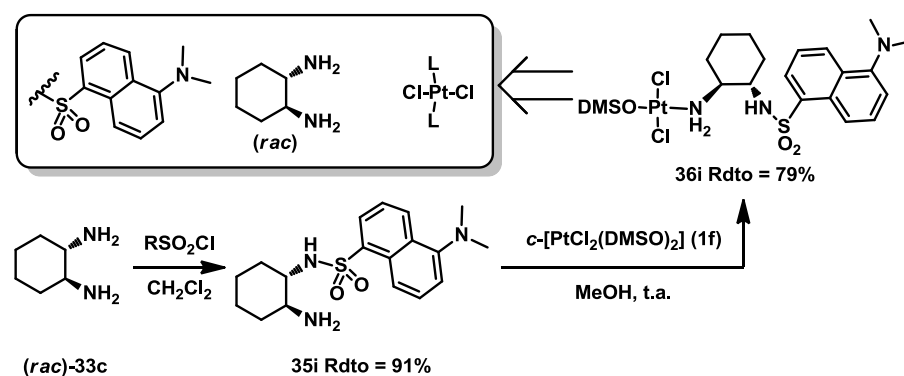
Por último, se consideró la síntesis de un complejo de platino con un ligando quiral en su estructura, ya que podría presentar tener mejor actividad que su análogo racémico. En la gráfica 4 se muestran los valores de  $GI_{50}$  del complejo racémico **36f** y el quiral (+)-**36f**. Como puede observarse y de una forma sorprendente, no hay a penas cambios en la citotoxicidad de estos complejos en todas las líneas celulares excepto en WirDr, en la que el complejo racémico muestra mejor actividad citotóxica. Al menos en esta línea celular, los datos sugieren que los mejores valores corresponden al enantiómero (-)-**36f**, aunque es necesario un estudio en mayor profundidad para corroborar los datos obtenidos. Debido a que el precio del ligando ópticamente puro es mucho mayor que el del racémico y las citotoxicidades observadas presentan pequeñas diferencias para la mayoría de las líneas celulares, se decidió que la (*rac*)-ciclohexildiamina es el mejor ligando para la síntesis de los complejos de Pt(II).



Gráfica 4

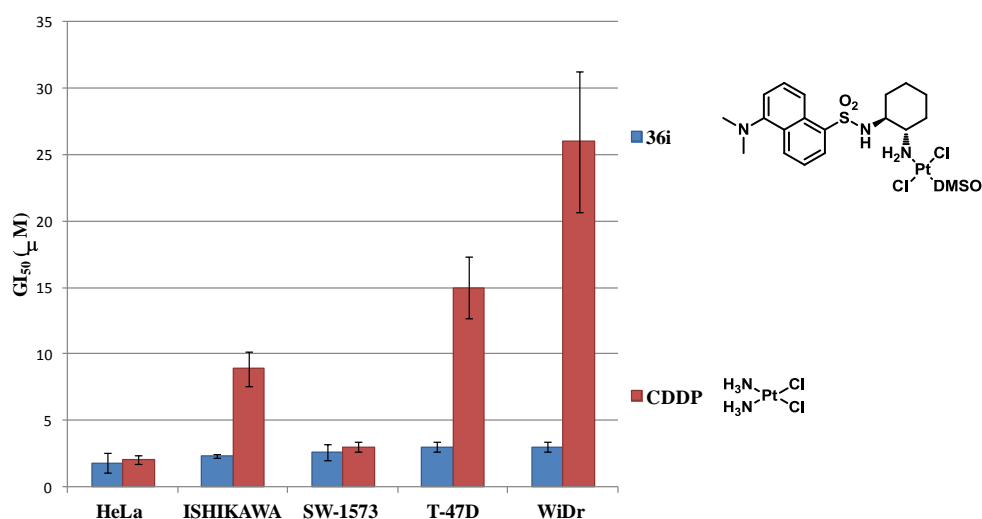
De acuerdo con la gráfica 1, el grupo dansilo es la estructura con mejores  $IG_{50}$ , la diamina más citotóxica es la (*rac*)-1,2-ciclohexildiamina (gráfica 3) y, por último, los complejos con cloruros son más activos que los mismos con ioduros. Por estas razones, como se indica en el esquema 28, se sintetizó un nuevo complejo (**36i**) que cumple los

requisitos anteriores descritos con el fin de obtener una mejor actividad antineoplásica. A partir del cloruro de dansilo comercial se obtuvo la sulfonamida **35i** con un rendimiento del 91% que tras reacción con *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>] (**1f**) se pudo aislar el complejo **36i** con un rendimiento final del 72% en sólo dos etapas de reacción.



Esquema 28

El complejo **36i** fue evaluado en un panel de líneas representativas de células tumorales humanas y comparado con el cisplatino. En la gráfica 5 se observa que en todas las líneas celulares ensayadas el compuesto **36i** fue más activo que el cisplatino, siendo mucho más citotóxico que el CDDP en tres tipos de células diferentes (ISHIKAWA, T-47D y WiDr). Por tanto, el mejor complejo antitumoral ensayado hasta



Gráfica 5

el momento es el **36i**, y adicionalmente al poseer un grupo fluoróforo, nos permite llevar a cabo el estudio de interacción con otras moléculas e incluso su seguimiento en la célula por ensayos de fluorescencia.

#### 5.4. Experimentos de interacción con la GMP

Con el fin de comprender la posible interacción entre los compuestos **36b-i** con el ADN, se realizaron los estudios con la guanosina monofosfato (GMP), debido a que los complejos de platino, dentro del núcleo celular, se unen en mayor proporción a la guanosina que a otra base nitrogenada.

Inicialmente, se empleó la técnica espectroscópica UV-Vis debido a que el complejo **36i** presenta una unidad fluorescente. Así, el compuesto de platino **36i** se incubó con la GMP comercial y se estudió su interacción hasta 24 horas, registrando un espectro cada dos horas (por claridad, en la figura 32, sólo están representadas cinco curvas).<sup>a</sup> Dos picos característicos de absorción del complejo **36i** fueron observados a  $t = 0$  horas (240 nm y 330 nm). Después de 24 horas de incubación a 37 °C, la banda de absorción a 240 nm comienza a ser más intensa y una nueva absorción a 297 nm aparece (figura 33), sugiriendo que la interacción entre la GMP y el complejo de platino **36i** ha tenido lugar. Estos datos son consistentes con el test de antiproliferación el cual, normalmente, se realiza entre 24 y 48 horas (véase tabla 17 en la parte experimental).

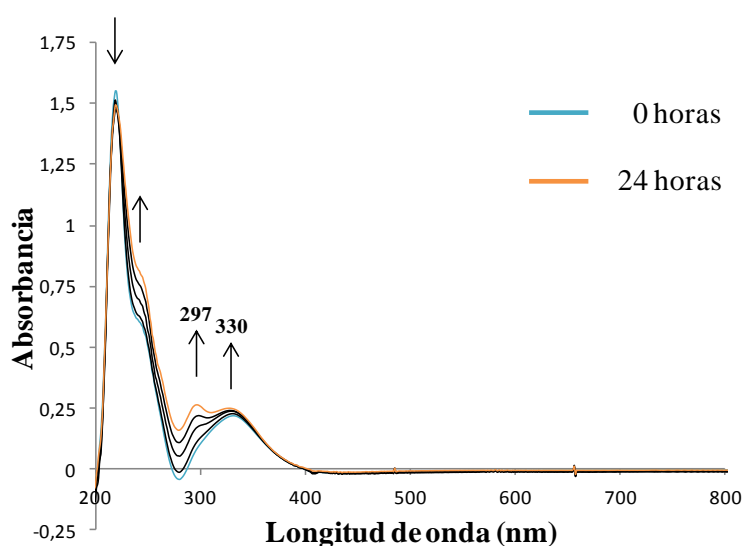


Figura 32

<sup>a</sup> El complejo de platino **36i** no es completamente soluble en H<sub>2</sub>O y la GMP no es soluble en metanol. Por esa razón el experimento fue llevado a cabo con una mezcla agua/MeOH 1:1.

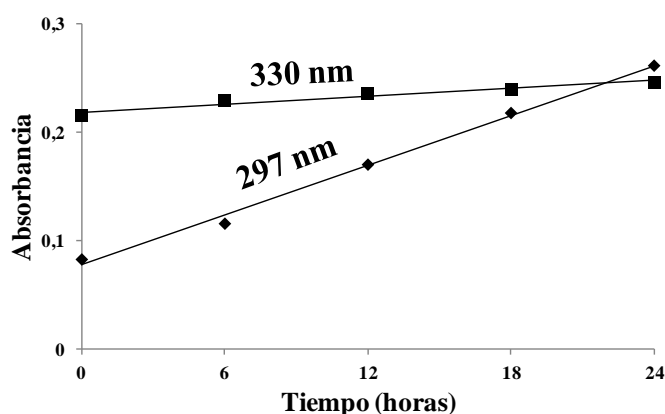


Figura 33

Posteriormente, y para confirmar la interacción entre el complejo **36i** y la GMP, se empleó la técnica de espectroscopía de masas. Así, se encontró que la incubación de **36i** con GMP analizada por espectrometría de masas de ionización por electrospray (ESI-MS),<sup>168</sup> produce tres señales principales recogidas en la tabla 16. El primer pico a 362  $m/z$  coincide con GMP libre. Los dos picos adicionales mayoritarios,  $m/z = 585$  y  $m/z = 902$  (izquierda y centro, respectivamente, figura 34), muestran un patrón isotópico típico de los complejos de platino, indicando que la complejación del átomo de platino con la GMP ha ocurrido. De acuerdo con los mecanismos propuestos de complejación,<sup>133</sup> el primer paso es la hidrólisis del complejo de platino, siendo la correspondiente especie monoacuo la que interacciona con la GMP libre. Este hecho fue confirmado por los picos observados 902  $m/z$  y 451  $m/z$  (entrada 3). Adicionalmente, se observa un pico a 720,6  $m/z$  (derecha, figura 31) que corresponde al dímero  $Pt_2(35i)_2(GMP)$  (entrada 4).

Tabla 16. Datos ESI-MS<sup>-</sup> de **36i** y GMP.<sup>a</sup>

Entrada	$m/z$	$m/2z$	Aducto
1	362		GMP
2	585		Pt(GMP)(MeOH)
3	902	451	Pt(GMP)( <b>35i</b> )
4	1441	720,6	Pt <sub>2</sub> ( <b>35i</b> ) <sub>2</sub> (GMP)

<sup>a</sup> Relación metal/GMP, 1:1.

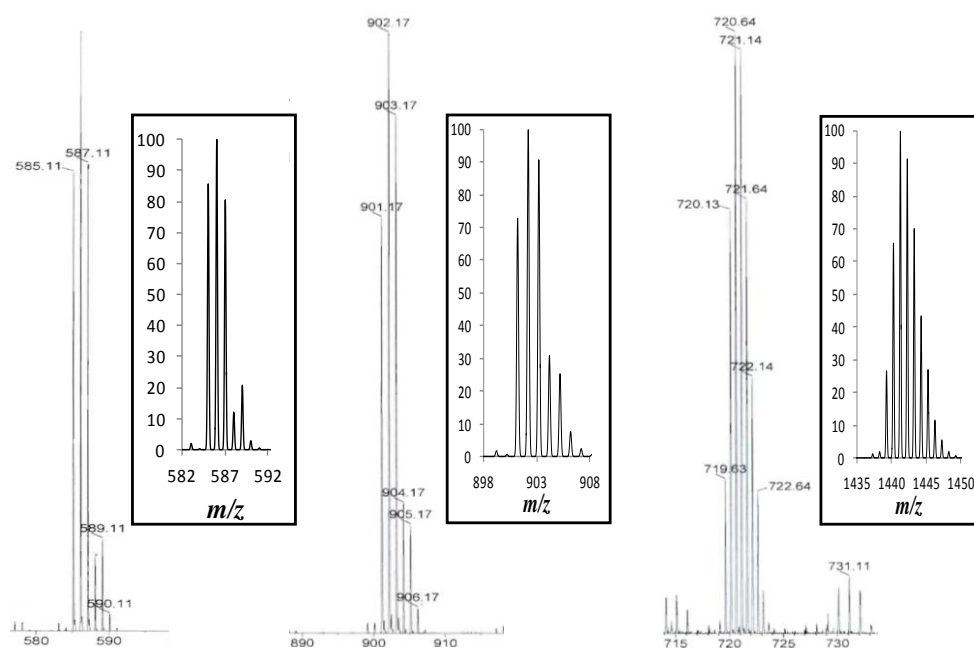
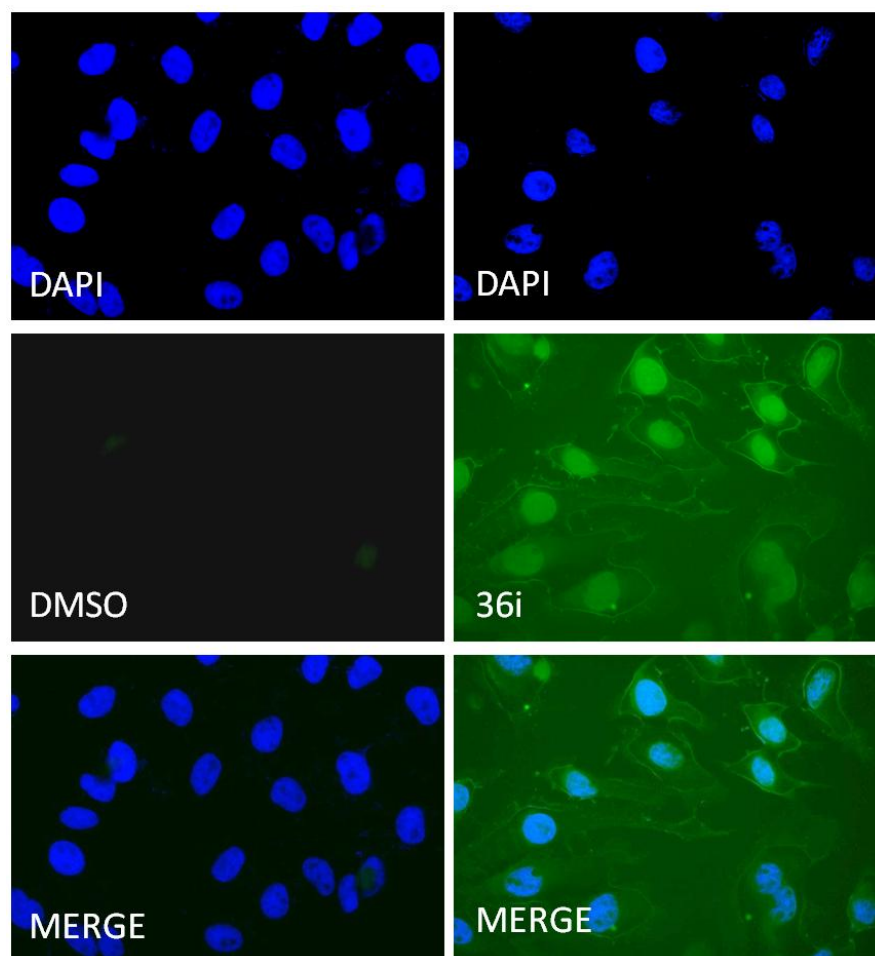


Figura 34

### 5.5. Ensayos de fluorescencia

Para establecer cuál es la distribución celular de los fármacos sintetizados y, a la vez, estudiar su posible diana principal, se llevó a cabo un ensayo de fluorescencia en células, ya que el complejo **36i** presenta una unidad fluorófora (dansilo) la cuál permite un fácil seguimiento de la distribución del compuesto dentro de la misma. Previamente, se realizó el control negativo de las células HeLa que fueron tratadas con DAPI (agente de tinción específico del núcleo) y DMSO (columna izquierda, figura 35) para asegurar que la fluorescencia de las células se debía únicamente a **36i**. En las imágenes mostradas se pueden observar los núcleos de las células de color azul (imagen superior izquierda), además, en el merge (combinación de las imágenes superior y centro izquierda) sólo se aprecia la fluorescencia del DAPI (imagen inferior izquierda). Posteriormente, después del tratamiento de la misma línea celular con el complejo **36i** (columna derecha, figura 35) se realizaron los estudios de colocación con DAPI (imagen superior derecha), mostrando en el merge (combinación de las imágenes superior y centro derecha) que el complejo **36i** se concentraba en el núcleo celular (imagen inferior derecha), permitiendo la interacción del compuesto de platino **36i** con el ADN. Así mismo, las células tratadas con **36i** muestran también una intensa señal de fluorescencia localizada en la membrana celular (imagen centro derecha), pudiendo ser debido a la interacción de las proteínas pertenecientes a la misma con el complejo de platino.

**Figura 35**

### 5.6. Conclusiones

Como conclusiones a este capítulo de los resultados obtenidos, se puede afirmar que:

- Se ha desarrollado un método sintético sencillo, barato y rápido (2 etapas) para la síntesis de nuevos complejos de platino(II), conteniendo en su estructura un grupo sulfonamida.
- Los complejos obtenidos de platino(II) con un ligando sulfonamida son buenos fármacos antitumorales presentando en muchos casos una citotoxicidad muy alta.

- c) Según las relaciones estructura-actividad obtenidas, el complejo con mejor citotoxicidad es el que contiene en su estructura dos cloruros, además de la (*rac*)-1,2-ciclohexildiamina y la unidad dansilo en la sulfonamida.



## 5.7. Parte experimental

### 5.7.1. Materiales e instrumentación

Se siguieron los procedimientos descritos en el epígrafe 2.5.1. Adicionalmente, los espectros de absorción electrónica se registraron en un espectrómetro Agilent 8452 en el rango 190-1100 nm con celdas de 1 cm de cuarzo termostatzadas por el criostato Unisoku con rango de (-100)-100 °C.

### 5.7.2. Estudios cinéticos

25 µl de una solución de GMP ( $10^{-2}$  M) y 27 µl de una solución del compuesto **36i** ( $9,2 \cdot 10^{-3}$  M) se diluyeron hasta 5 mL con una mezcla 1:1 MeOH/H<sub>2</sub>O. Las medidas de absorción UV-Vis se realizaron a 37 °C cada dos horas durante 24 horas.

### 5.7.3. Ensayos de citotoxicidad

Para la realización del estudio con las líneas celulares HeLa (adenocarcinoma de cérvix), SW-1573 (carcinoma alveolar de pulmón), ISHIKAWA (adenocarcinoma de endometrio), T-47D (carcinoma ductal de mama) y WiDr (adenocarcinoma colorectal) se disolvieron los compuestos **36b-i** y (+)-**36f** para obtener una concentración 400 veces superior a la final deseada. El control de células fue expuesto a una concentración de un equivalente de DMSO (0,25% v/v, control negativo). Cada compuesto fue ensayado por

**Tabla 17.** Índice de inhibición del 50% del crecimiento celular (GI<sub>50</sub>) de **36a-i** y (+)-**36f** en comparación con el cisplatino en células tumorales humanas.<sup>a</sup>

Entrada	Complejo	GI <sub>50</sub> (µM) <sup>b</sup>				
		HeLa	ISHIKAWA	SW-1573	T-47D	WiDr
1	<b>36b</b>	3,10 (±2,80)	15,00 (±sd <sup>c</sup> )	16,00 (±0,63)	22,00 (±0,97)	19,00 (±3,50)
2	<b>36c</b>	21,00 (±3,10)	20,00 (±sd <sup>c</sup> )	20,00 (±5,10)	29,00 (±4,50)	25,00 (±2,50)
3	<b>36d</b>	26,00 (±2,70)	3,90 (±0,03)	3,80 (±0,53)	23,00 (±1,80)	20,00 (±3,30)
4	<b>36e</b>	27,00 (±2,20)	17,00 (±1,60)	27,00 (±2,90)	29,00 (±6,50)	23,00 (±2,20)
5	<b>36f</b>	2,30 (±0,34)	2,60 (±0,91)	2,50 (±0,51)	14,00 (±0,81)	3,50 (±1,00)
6	<b>36g</b>	2,20 (±0,06)	1,80 (±0,28)	3,40 (±0,31)	sd <sup>c</sup>	2,60 (±0,69)
7	<b>36h</b>	25,00 (±1,40)	16,00 (±1,60)	21,00 (±3,10)	23,00 (±3,50)	28,00 (±3,30)
8	(+)- <b>36f</b>	1,10 (±0,26)	2,20 (±sd <sup>c</sup> )	3,10 (±0,56)	20,00 (±1,10)	16,00 (±2,70)
9	<b>36i</b>	1,80 (±0,71)	2,30 (±0,12)	2,60 (±0,62)	3,00 (±0,34)	3,00 (±0,35)
10	<b>CDDP</b>	2,00 (±0,32)	8,90 (±1,30)	3,00 (±0,37)	15,00 (±2,30)	26,00 (±5,30)

<sup>a</sup> Los datos se obtuvieron después de 48 horas de exposición al fármaco. <sup>b</sup> Los valores mostrados corresponden al GI<sub>50</sub> (± desviación estándar de 3 experimentos independientes). <sup>c</sup> Sin datos.

triplicado a diferentes diluciones en el rango de 1-100  $\mu\text{M}$ . El tratamiento del fármaco se comenzó un día después del último pase. El tiempo de incubación de los compuestos fue de 48 horas. Pasado ese tiempo, las células se precipitaron con 25  $\mu\text{l}$  de TCA y hielo seco (50% p/v) y se fijaron durante 60 minutos a 4 °C. Entonces, se realizó el ensayo SRB. La densidad óptica (OD) de cada pocillo fue medido a 492 nm, utilizando BioTek's PowerWave XS Absorbance Microplate Reader

#### 5.7.4. Cultivos celulares

Las células HeLa fueron cultivadas en monocapa utilizando DMEM (*Dulbecco's modified Eagle's medium*) suplementado con un 1% de L-glutamina y Piruvato, 10% de suero fetal previamente inactivado, 100 mg/mL de penicilina y 100 mg/mL de estreptomicina. Las células se mantuvieron en medio completo hasta alcanzar una confluencia del 80%. En este punto se tripsinizaron, centrifugaron y resuspendieron en el medio previamente descrito. Para llevar a cabo los experimentos de fluorescencia, 25.000 células fueron sembradas sobre cubreobjetos e incubadas 24 horas a 37 °C en atmósfera humedecida de 5%  $\text{CO}_2$  y 95% aire.

#### 5.7.5. Ensayos de fluorescencia

El compuesto **36i** fue disuelto en DMSO a concentración final de 1 mM. El tratamiento fue realizado a concentración final 0,1  $\mu\text{M}$  en medio libre de suero durante una hora. El control negativo fue realizado añadiendo DMSO a las células. Tras el tratamiento, las células se lavaron dos veces con Buffer fosfato salino (PBS) a concentración 0,1 M y fueron fijadas con una disolución 4% (p/v) de paraformaldehído durante 20 minutos a temperatura ambiente. Tras este proceso se realizó una tinción con DAPI (4,6-diamino-2-fenilindol) para identificar los núcleos celulares. Las células se lavaron tres veces con PBS 0,1M. El montaje fue realizado aplicando Fluorsave (Calbiochem).

Las imágenes se obtuvieron usando un microscopio de fluorescencia Zeiss Axioplan 2 equipado con una cámara fotográfica RT color SPOT (Diagnostic Instruments).

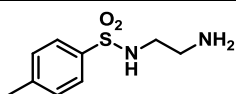
#### 5.7.6. Síntesis de materiales de partida

Los reactivos de partida comerciales y los disolventes se emplearon sin realizar ninguna purificación. Los compuestos de platino(II) **1f**<sup>126</sup> y **1s**<sup>169</sup> se prepararon siguiendo el procedimiento descrito en la bibliografía.

### 5.7.6.1. Procedimiento general para la síntesis de mono-*N*-sulfonamidas

Sobre una disolución del correspondiente cloruro de sulfonilo (26 mmol) en 26 mL de diclorometano a 0 °C se añade rápidamente una disolución de la correspondiente diamina **33a-c** (10 equivalentes, 3 M en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). Transcurridas 3-5 horas, la mezcla de reacción se sube a temperatura ambiente y se mantiene la agitación durante 12 horas. A continuación, el crudo de la mezcla se filtra y el filtrado se concentra bajo presión reducida. Posteriormente, se añaden 10 mL de agua-hielo sobre el aceite resultante, apareciendo un precipitado que se filtra, lava con agua fría y seca a vacío durante 12 horas para dar lugar a las mono-sulfonamidas puras.

#### (*N*)-(3-Aminoetil)-4-metilbencenosulfonamida (**35a**)



Fórmula molecular: C<sub>9</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S

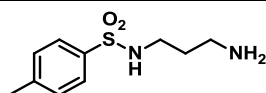
Rdto (%) = 73

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 5.7.6.1. como sólido blanco.

<sup>1</sup>H RMN (300 Hz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,70 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,23 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 2,93 (t, *J* = 5,1 Hz, 2H), 2,80 (t, *J* = 5,1 Hz, 2H), 2,35 (s, 3H).

<sup>13</sup>C RMN (75 Hz, CDCl<sub>3</sub>): δ 143,2 (C), 137,0 (C), 129,7 (CH), 127,0 (CH), 44,6 (CH<sub>2</sub>), 40,8 (CH<sub>2</sub>), 21,4 (CH<sub>3</sub>).

#### (*N*)-(3-Aminopropil)-4-metilbencenosulfonamida (**35b**)



Fórmula molecular: C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S

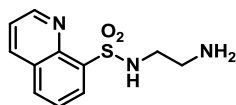
Rdto (%) = 84

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 5.7.6.1. como sólido blanco.

<sup>1</sup>H RMN (300 Hz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,75 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,31 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 3,06 (t, *J* = 6,2 Hz, 2H), 2,78 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H), 2,42 (s, 3H), 1,58 (quint, *J* = 6,1 Hz, 2H).

<sup>13</sup>C RMN (75 Hz, CDCl<sub>3</sub>): δ 143,1 (C), 137,2 (C), 129,6 (CH), 127,1 (CH), 43,0 (CH<sub>2</sub>), 40,8 (CH<sub>2</sub>), 30,9 (CH<sub>2</sub>), 21,5 (CH<sub>3</sub>).

MS-FAB<sup>+</sup>: [M+H]<sup>+</sup> calculado para C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S 229,1005; encontrado 229,1008.

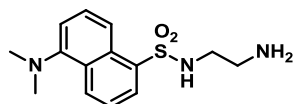
**(N)-(3-Aminoetil)quinolina-8-sulfonamida (35c)****Fórmula molecular:** C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S**Rdto (%)** = 80

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 5.7.6.1. como sólido amarillo.

**<sup>1</sup>H RMN (300 Hz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 7,75 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,31 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 3,06 (t, *J* = 6,2 Hz, 2H), 2,78 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H), 2,42 (s, 3H), 1,58 (quint, *J* = 6,1 Hz, 2H).

**<sup>13</sup>C RMN (75 Hz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 143,1 (C), 137,2 (C), 129,6 (CH), 127,1 (CH), 43,0 (CH<sub>2</sub>), 40,8 (CH<sub>2</sub>), 30,9 (CH<sub>2</sub>), 21,5 (CH<sub>3</sub>).

**MS-FAB<sup>+</sup>:** [M+H]<sup>+</sup> calculado para C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S 229,1005; encontrado 229,1008.

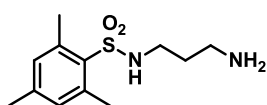
**(N)-(2-Aminoetil)-5-(dimetilamino)naftaleno-1-sulfonamida (35d)****Fórmula molecular:** C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S**Rdto (%)** = 89

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 5.7.6.1. como sólido verdoso.

**<sup>1</sup>H RMN (300 Hz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 8,52 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 8,30 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 8,22 (dd, *J* = 7,3, 1,2 Hz, 1H), 7,54 (dd, *J* = 8,6, 7,7 Hz, 1H), 7,50 (dd, *J* = 8,5, 7,4 Hz, 1H), 7,16 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 2,89 (dd, *J* = 6,5, 4,9 Hz, 2H), 2,87 (s, 6H), 2,67 (dd, *J* = 6,5, 4,8 Hz, 1H).

**<sup>13</sup>C RMN (75 Hz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 152,0 (C), 134,7 (C), 130,4 (CH), 129,9 (C), 129,7 (CH), 129,6 (C), 128,4 (CH), 123,2 (CH), 118,7 (CH), 115,2 (CH), 45,5 (CH<sub>2</sub>), 45,4 (CH<sub>3</sub>), 40,8 (CH<sub>2</sub>).

**MS-FAB<sup>+</sup>:** [M+H]<sup>+</sup> calculado para C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S 294,1276; encontrado 294,1270.

**(N)-(3-Aminopropil)-2,4,6-trimetilbencenosulfonamida (35e)****Fórmula molecular:** C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S**Rdto (%)** = 76

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 5.7.6.1. como sólido blanco.

**$^1\text{H}$  RMN (300 Hz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  6,95 (s, 2H) , 2,99 (t,  $J$  = 6,1 Hz, 2H), 2,80 (t,  $J$  = 6,0 Hz, 2H), 2,64 (s, 3H), 2,62 (s, 3H), 2,30 (s, 3H), 1,67-1,56 (m, 2H).

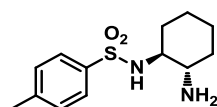
**$^{13}\text{C}$  RMN (75 Hz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  142,2 (C), 141,8 (C), 139,0 (C), 138,9 (C), 132,0 (CH), 131,8 (CH), 42,4 ( $\text{CH}_2$ ), 41,0 ( $\text{CH}_2$ ), 30,8 ( $\text{CH}_2$ ), 22,9 ( $\text{CH}_3$ ), 20,9 ( $\text{CH}_3$ ).

**MS-FAB $^+$ :**  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$  257,1318; encontrado 257,1328.

---

**(N)-(2-Aminociclohexil)-4-metilbencenosulfonamida (35f)**

---



**Fórmula molecular:**  $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$

**Rdto (%)** = 82

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 5.7.6.1. como sólido blanco.

**$^1\text{H}$  RMN (300 Hz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  7,75 (d,  $J$  = 8,2 Hz, 2H), 7,24 (d,  $J$  = 7,9 Hz, 2H), 3,72 (sa, 3H), 2,69 (dt,  $J$  = 10,1, 3,7 Hz, 1H), 2,48 (dt,  $J$  = 10,1, 3,9 Hz, 1H), 2,36 (s, 3H), 1,93-1,90 (m, 1H), 1,57-1,49 (m, 3H), 1,21-1,05 (m, 4H).

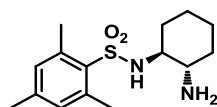
**$^{13}\text{C}$  RMN (75 Hz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  143,1 (C), 138,3 (C), 129,6 (CH), 127,0 (CH), 60,0 (CH), 54,6 (CH), 34,7 ( $\text{CH}_2$ ), 32,3 ( $\text{CH}_2$ ), 25,0 ( $\text{CH}_2$ ), 24,6 ( $\text{CH}_2$ ), 21,5 ( $\text{CH}_3$ ).

**MS-FAB $^+$ :**  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$  269,1318; encontrado 269,1326.

---

**(N)-(2-Aminociclohexil)-2,4,6-trimetilbenceno-1-sufonamida (35g)**

---



**Fórmula molecular:**  $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$

**Rdto (%)** = 66

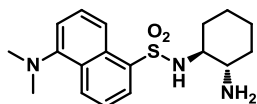
El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 5.7.6.1. como sólido blanco.

**$^1\text{H}$  RMN (300 Hz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  6,95 (s, 2H), 2,66 (s, 6H), 2,65 (dt,  $J$  = 10,3, 4,0 Hz, 1H), 2,45 (dt,  $J$  = 10,3, 3,6 Hz, 1H), 2,30 (s, 3H), 1,97-1,85 (m, 2H), 1,65-1,59 (m, 2H), 1,28-1,04 (m, 4H).

**$^{13}\text{C}$  RMN (75 Hz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  141,9 (C), 138,8 (C), 134,8 (C), 131,9 (CH), 60,2 (CH), 54,7 (CH), 35,7 ( $\text{CH}_2$ ), 32,5 ( $\text{CH}_2$ ), 25,0 ( $\text{CH}_2$ ), 24,8 ( $\text{CH}_2$ ), 23,1 ( $\text{CH}_3$ ), 20,9 ( $\text{CH}_3$ ).

**MS-FAB<sup>+</sup>**: [M+H]<sup>+</sup> calculado para C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S 297,1637; encontrado 297,1639.

**(N)-(2-Aminociclohexil)-5-(dimetilamino)naftaleno-1-sulfonamida (35i)**



**Fórmula molecular:** C<sub>18</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S

**Rdto (%)** = 91

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 5.7.6.1. como sólido amarillo.

**<sup>1</sup>H RMN (300 Hz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 8,46 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 8,40 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 8,29 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 7,52 (t, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,46 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,09 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 3,97 (sa, 3H), 2,79 (s, 6H), 2,77-2,69 (m, 1H), 2,57-2,49 (m, 1H), 1,91-1,86 (m, 1H), 1,46-1,43 (m, 1H), 1,40-1,33 (m, 2H), 1,05-0,89 (m, 4H).

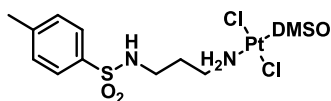
**<sup>13</sup>C RMN (75 Hz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 151,8 (C), 136,1 (C), 130,2 (CH), 129,7 (C), 129,6 (C), 129,4 (CH), 128,4 (CH), 123,2 (CH), 119,2 (CH), 115,2 (CH), 60,3 (CH), 54,4 (CH), 45,4 (CH<sub>3</sub>), 34,5 (CH<sub>2</sub>), 32,3 (CH<sub>2</sub>), 25,0 (CH<sub>2</sub>), 24,5 (CH<sub>2</sub>).

**MS-FAB<sup>+</sup>**: [M+H]<sup>+</sup> calculado para C<sub>18</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S 348,1740; encontrado 348,1741.

**5.7.7. Procedimiento para la síntesis de los complejos de platino(II) 36b, 36d, 36f y 36i**

El complejo de platino *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>] (0,22 mmol) se añade a una solución de la sulfonamida correspondiente (**35b**, **35d**, **35f** ó **35i**) (0,2 mmol) en metanol (0,2 mL). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 72 horas. Posteriormente, la mezcla de reacción se filtra y el filtrado resultante se concentra a vacío, se lava con H<sub>2</sub>O fría y seca a vacío durante 24 horas dando lugar a los complejos de platino puros.

***trans*-Dicloro(dimetilsulfóxido-*S*)(*N*-(3-aminopropil)tosilamida-*N'*) platino(II) (36b)**



**Fórmula molecular:** C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>PtS<sub>2</sub>

**Rdto (%)** = 59

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 5.7.7. como sólido amarillo pálido.

**<sup>1</sup>H RMN (300 Hz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 7,78 (d, *J* = 7,0 Hz, 2H), 7,32 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 5,49-4,45 (m, 1H), 4,33 (sa, 2H), 3,43 (s, 6H), 3,09-3,03 (m, 4H), 2,44 (s, 3H), 2,03-1,96 (m, 2H).

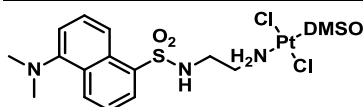
**$^{13}\text{C}$  RMN (75 Hz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  143,5 (C), 136,5 (C), 129,8 (CH), 127,2 (CH), 43,7 ( $\text{CH}_3$ ), 42,9 ( $\text{CH}_2$ ), 40,3 ( $\text{CH}_2$ ), 30,2 ( $\text{CH}_2$ ), 21,5 ( $\text{CH}_3$ ).

**$^{195}\text{Pt}$  RMN (64 Hz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  -3075,5.

**MS-ESI<sup>+</sup>:**  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  calculado para  $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_3\text{PtS}_2\text{Na}$  593,9990; encontrado 593,9980.

**Análisis elemental:** calculado para  $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_3\text{PtS}_2$  C: 25,18; H: 3,87; N: 4,89. Encontrado C: 25,08; H: 3,97; N: 4,83.

***trans*-Dicloro(dimetilsulfóxido-*S*)(*N*-(2-aminoetil)dansilamida-*N'*) platino(II) (37d)**



**Fórmula molecular:**  $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_3\text{PtS}_2$

**Rdto (%) = 69**

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 5.7.7. como sólido amarillo.

**$^1\text{H}$  RMN (300 Hz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  7,81 (d,  $J = 8,3$  Hz, 2H), 7,31 (d,  $J = 8,0$  Hz, 2H), 6,23 (d,  $J = 9,4$  Hz, 1H), 4,98 (d,  $J = 10,7$  Hz, 1H), 3,45 (s, 6H), 2,95-8,79 (m, 3H), 2,38 (s, 3H), 1,79-1,66 (m, 1H), 1,53-1,49 (m, 1H), 1,33-1,26 (m, 1H), 1,24-1,15 (m, 2H), 1,14-0,96 (m, 2H).

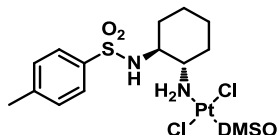
**$^{13}\text{C}$  RMN (75 Hz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  144,1 (C), 137,5 (C), 130,1 (CH), 127,0 (CH), 58,9 (CH), 58,6 (CH), 44,2 ( $\text{CH}_3$ ), 43,9 ( $\text{CH}_3$ ), 32,6 ( $\text{CH}_2$ ), 32,3 ( $\text{CH}_2$ ), 24,9 ( $\text{CH}_2$ ), 24,2 ( $\text{CH}_2$ ), 21,6 ( $\text{CH}_3$ ).

**$^{195}\text{Pt}$  RMN (64 Hz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  -3112,7.

**MS-ESI<sup>+</sup>:**  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  calculado para  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{NaO}_3\text{PtS}_2$  634,0303; encontrado 634,0283.

**Análisis elemental:** calculado para  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_3\text{PtS}_2 \cdot 2/3\text{KCl}$  C: 27,21; H: 3,96; N: 4,23. Encontrado C: 27,13; H: 4,13; N: 4,25.

***trans*-Dicloro(dimetilsulfóxido-*S*)(*N*-(2-aminociclohexil)tosilamida-*N'*) platino(II) (37f)**



**Fórmula molecular:**  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_3\text{PtS}_2$

**Rdto (%) = 71**

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 5.7.7. como sólido amarillo pálido.

**$^1\text{H}$  RMN (300 Hz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  7,78 (d,  $J = 8,2$  Hz, 2H), 7,32 (d,  $J = 8,1$  Hz, 2H), 5,50 (sa, 1H), 4,93 (d,  $J = 9,4$  Hz, 1H), 3,43 (s, 7H), 3,01-2,81 (m, 3H), 2,43 (s, 3H), 1,81-1,71 (m, 1H), 1,71-1,62 (m, 1H), 1,62-1,50 (m, 1H), 1,36-1,16 (m, 2H), 1,16-0,96 (m, 2H).

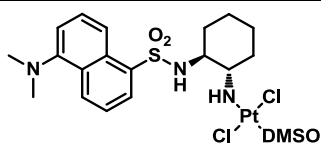
**$^{13}\text{C}$  RMN (75 Hz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  144,1 (C), 137,9 (C), 130,2 (CH), 127,1 (CH), 59,0 (CH), 58,8 (CH), 44,4 ( $\text{CH}_3$ ), 44,0 ( $\text{CH}_3$ ), 32,8 ( $\text{CH}_2$ ), 32,3 ( $\text{CH}_2$ ), 25,1 ( $\text{CH}_2$ ), 24,4 ( $\text{CH}_2$ ), 21,7 ( $\text{CH}_3$ ).

**$^{195}\text{Pt}$  RMN (64 Hz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  -3112,7.

**MS-ESI $^+$ :**  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  calculado para  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{NaO}_3\text{PtS}_2$  634,0303; encontrado 634,0283.

**Análisis elemental:** calculado para  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_3\text{PtS}_2$ : C, 29,41; H, 4,28; N, 4,57. Encontrado: C, 29,68; H, 4,20; N, 4,41.

***trans*-Dicloro(dimetilsulfóxido-*S*)(*N*-(2-aminociclohexil)dansilamida-*N'*) platino(II) (37i)**



**Fórmula molecular:**  $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_3\text{PtS}_2$

**Rdto (%) = 79**

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 5.7.7. como sólido amarillo.

**$^1\text{H}$  RMN (300 Hz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  8,49 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1H), 8,22 (d,  $J = 7,4$  Hz, 2H), 8,35 (d,  $J = 6,9$  Hz, 1H), 7,49 (c,  $J = 8,2$  Hz, 1H), 7,13 (t,  $J = 7,3$  Hz, 1H), 5,42 (d,  $J = 9,1$  Hz, 1H), 4,74 (d,  $J = 10,4$  Hz, 1H), 3,56 (s, 6H), 2,83 (s, 6H), 2,83-2,74 (m, 2H), 1,81-1,75 (m, 1H), 1,63-1,57 (m, 1H), 1,36-1,28 (m, 1H), 1,20-1,07 (m, 2H), 0,96-0,81 (m, 3H).

**$^{13}\text{C}$  RMN (75 Hz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  152,3 (C), 134,2 (C), 131,1 (CH), 130,0 (CH), 129,8 (C), 129,3 (C), 129,2 (CH), 123,2 (CH), 118,0 (CH), 115,5 (CH), 58,9 ( $\text{CH}_3$ ), 45,4 ( $\text{CH}_3$ ), 44,1 (CH), 44,0 (CH), 32,6 ( $\text{CH}_2$ ), 32,3 ( $\text{CH}_2$ ), 24,8 ( $\text{CH}_2$ ), 24,1 ( $\text{CH}_2$ ).

**$^{195}\text{Pt}$  RMN (64 Hz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  -3118,6.

**MS-FAB $^+$ :**  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_3\text{PtS}_2$  691,0816; encontrado 691,0819.

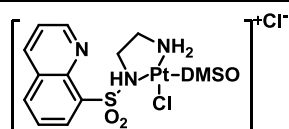
**Análisis elemental:** calculado para  $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_3\text{PtS}_2$  C: 34,73; H: 4,52; N: 6,08. Encontrado: C: 34,95; H: 4,52; N: 5,67.



### 5.7.8. Procedimiento para la síntesis de los complejos de platino(II) 36b, 36e y 36g

El complejo de platino *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>] (0,2 mmol) se añade sobre una disolución de la sulfonamida **35b**, **35e** ó **35g** (0,22 mmol) en metanol (0,2 mL). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 48 horas. Posteriormente, la mezcla de reacción se filtra y se lava con metanol (5 x 5 mL). El sólido amarillo resultante se lava con agua y seca a vacío durante 24 horas dando lugar a los complejo de platino(II) puros.

#### *cis*-Cloro(dimetilsulfóxido-*S*)(*N*-(1,2-diaminoetil)quinolin-8-amida-*N'*) platino(II) (36b)



**Fórmula molecular:** C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>PtS<sub>2</sub>

**Rdto (%) = 60**

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 5.7.8. como sólido amarillo pálido.

**<sup>1</sup>H RMN (300 Hz, acetona-*d*<sub>6</sub>):** δ 6,91 (s, 1H), 6,89 (s, 1H), 6,39 (t, *J* = 6,4 Hz, 1H), 6,22 (t, *J* = 6,4 Hz, 1H), 4,39 (sa, 1H), 3,18 (s, *J*<sub>Pt-H</sub> = 18,8 Hz, 6H), 2,92 (c, *J* = 6,6 Hz, 2H), 2,75 (c, *J* = 6,6 Hz, 2H), 2,51 (s, 3H), 2,45 (s, 3H), 2,16 (s, 3H), 1,85 (quint, *J* = 6,6 Hz, 1H), 1,51 (quint, *J* = 6,6 Hz, 1H).

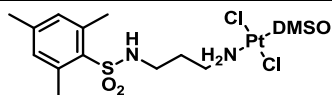
**<sup>13</sup>C RMN (75 Hz, acetona-*d*<sub>6</sub>):** δ 141,7 (C), 138,8 (C), 134,8 (C), 131,8 (CH), 42,7 (CH<sub>3</sub>), 39,7 (CH<sub>2</sub>), 39,4 (CH<sub>2</sub>), 30,3 (CH<sub>2</sub>), 22,2 (CH<sub>3</sub>), 22,1 (CH<sub>3</sub>), 19,9 (CH<sub>3</sub>).

**<sup>195</sup>Pt RMN (64 Hz, acetona-*d*<sub>6</sub>):** δ -3115,5.

**MS-ESI<sup>+</sup>:** [M+Na]<sup>+</sup> calculado para C<sub>14</sub>H<sub>26</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>3</sub>PtS<sub>2</sub> 622,0302; encontrado 622,0303.

**Análisis elemental:** calculado para C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>PtS<sub>2</sub>.acetona C: 31,00; H: 4,90; N: 4,25. Encontrado C: 31,39; H: 4,75; N: 4,24.

#### *trans*-Dicloro(dimetilsulfóxido-*S*)(*N*-(3-aminopropil)mesilamida-*N'*) platino(II) (36e)



**Fórmula molecular:** C<sub>14</sub>H<sub>26</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>PtS<sub>2</sub>

**Rdto (%) = 70**

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 5.7.8. como sólido amarillo pálido.

**<sup>1</sup>H RMN (300 Hz, acetona-*d*<sub>6</sub>):** δ 6,91 (s, 1H), 6,89 (s, 1H), 6,39 (t, *J* = 6,4 Hz, 1H),

6,22 (t,  $J = 6,4$  Hz, 1H), 4,39 (sa, 1H), 3,18 (s,  $J_{\text{Pt-H}}^3 = 18,8$  Hz, 6H), 2,92 (c,  $J = 6,6$  Hz, 2H), 2,75 (c,  $J = 6,6$  Hz, 2H), 2,51 (s, 3H), 2,45 (s, 3H), 2,16 (s, 3H), 1,85 (quint,  $J = 6,6$  Hz, 1H), 1,51 (quint,  $J = 6,6$  Hz, 1H).

$^{13}\text{C}$  RMN (75 Hz, acetona- $\text{d}_6$ ):  $\delta$  141,7 (C), 138,8 (C), 134,8 (C), 131,8 (CH), 42,7 (CH<sub>3</sub>), 39,7 (CH<sub>2</sub>), 39,4 (CH<sub>2</sub>), 30,3 (CH<sub>2</sub>), 22,2 (CH<sub>3</sub>), 22,1 (CH<sub>3</sub>), 19,9 (CH<sub>3</sub>).

$^{195}\text{Pt}$  RMN (64 Hz, acetona- $\text{d}_6$ ):  $\delta$  -3115,5.

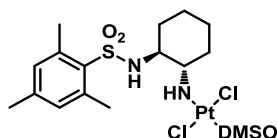
MS-ESI<sup>+</sup>:  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  calculado para  $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{NaO}_3\text{PtS}_2$  622,0302; encontrado 622,0303.

Análisis elemental: calculado para  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_3\text{PtS}_2 \cdot \text{acetona}$  C: 31,00; H: 4,90; N: 4,25. Encontrado C: 31,39; H: 4,75; N: 4,24.

---

***trans*-Dicloro(dimetilsulfóxido-*S*)(*N*-(2-aminociclohexil)mesilamida-*N'*) platino(II) (36g)**

---



**Fórmula molecular:**  $\text{C}_{17}\text{H}_{30}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_3\text{PtS}_2$

**Rdto (%) = 57**

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 5.7.8. como sólido amarillo pálido.

$^1\text{H}$  RMN (300 Hz, DMSO- $\text{d}_6$ ):  $\delta$  7,75 (d,  $J = 9,3$  Hz, 1H), 7,02 (s, 2H), 4,95 (t,  $J = 10,8$  Hz, 1H), 4,31 (d,  $J = 10,8$  Hz, 1H), 3,31 (s, 6H), 2,89-2,79 (m, 1H), 2,56 (s, 6H), 2,43-2,39 (m, 1H), 2,26 (s, 3H), 1,60-1,56 (m, 1H), 1,45-1,41 (m, 1H), 1,35-1,27 (m, 1H), 1,21-1,13 (m, 2H), 1,09-0,97 (m, 2H), 0,89-0,86 (m, 1H).

$^{13}\text{C}$  RMN (75 Hz, DMSO- $\text{d}_6$ ):  $\delta$  142,1 (C), 138,9 (C), 135,3 (C), 132,2 (C), 58,5 (CH), 56,2 (CH), 40,9 (CH<sub>3</sub>), 31,0 (CH<sub>2</sub>), 24,6 (CH<sub>2</sub>), 24,2 (CH<sub>2</sub>), 23,2 (CH<sub>3</sub>), 20,9 (CH<sub>3</sub>).

$^{195}\text{Pt}$  RMN (64 Hz, DMSO- $\text{d}_6$ ):  $\delta$  -3120,1.

MS-ESI<sup>+</sup>:  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{17}\text{H}_{30}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_3\text{PtS}_2$  662,0615; encontrado 662,0735.

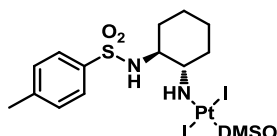
Análisis elemental: calculado para  $\text{C}_{17}\text{H}_{30}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_3\text{PtS}_2 \cdot 2/3\text{KCl}$  C: 29,58; H: 4,38; N: 4,06. Encontrado C: 29,12; H: 4,43; N: 4,16.

---

***trans*-Diyodo(dimetilsulfóxido-*S*)(*N*-(2-aminociclohexil)tosilamida-*N'*) platino(II) (36h)**

---

Sobre una suspensión de *cis*-PtI<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub> (0,22 mmol) en metanol (0,2 mL) se añade la *N*-sulfonamida **35b** (0,20 mmol). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 48 horas. Transcurrido este tiempo se obtiene una suspensión marrón amarillenta que se filtra y se lava sucesivas veces con metanol (2 x 4 mL) y, posteriormente, con acetona (2 x 2 mL). La disolución obtenida se concentra y enfría hasta la obtención de un sólido marrón-anaranjado que se filtra y seca a vacío para dar lugar al correspondiente complejo **36h** puro como sólido anaranjado.



**Fórmula molecular:** C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>I<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>PtS<sub>2</sub>

**Rdto (%) = 61**

**<sup>1</sup>H RMN (300 Hz, acetona-d<sub>6</sub>):** δ 7,66 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,29 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 6,66 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 4,63 (sa, 1H), 4,02 (sa, 1H), 3,66 (s, <sup>3</sup>*J*<sub>Pt-H</sub> = 10,2 Hz, 3H), 3,62-3,57 (m, 1H), 3,01-2,92 (m, 1H), 2,52-2,47 (m, 1H), 2,30 (s, 3H), 1,61-1,58 (m, 1H), 1,44-1,40 (m, 1H), 1,30-0,96 (m, 5H).

**<sup>13</sup>C RMN (75 Hz, acetona-d<sub>6</sub>):** δ 144,4 (C), 139,3 (C), 130,6 (CH), 127,9 (CH), 61,7 (CH), 59,2 (CH), 51,7 (CH<sub>3</sub>), 33,9 (CH<sub>2</sub>), 32,3 (CH<sub>2</sub>), 25,5 (CH<sub>2</sub>), 25,3 (CH<sub>2</sub>), 21,4 (CH<sub>3</sub>).

**<sup>195</sup>Pt RMN (64 Hz, acetona-d<sub>6</sub>):** δ -4393,2.

**Análisis elemental:** calculado para C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>I<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>PtS<sub>2</sub>·1/3KI: C, 21,18; H, 3,08; N, 3,29; S, 7,54. Encontrado: C, 20,76; H, 3,04; N, 3,54; S, 7,85.

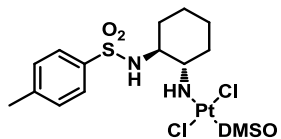
---

***trans*-Dicloro(dimetilsulfóxido-*S*)(*N*-(2-aminociclohexil)tosilamida-*N'*) platino(II) ((+)-36f)**

---

Sobre una suspensión de *cis*-PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub> (0,22 mmol) en metanol (0,2 mL) se añade la *N*-sulfonamida (+)-**35f** (0,20 mmol). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 48 horas. Transcurrido este tiempo se obtiene una suspensión amarillo que se filtra, se lava sucesivas veces con metanol (2 x 4 mL) y, posteriormente, con acetona (2 x 2 mL). La disolución obtenida se concentra y se enfría hasta la obtención de un sólido amarillo que se filtra y se seca a vacío para dar lugar al correspondiente complejo (+)-**36f** puro. Las propiedades espectroscópicas son idénticas a las obtenidas con su homólogo

racémico (*rac*)-**36f**.



**Fórmula molecular:** C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>PtS<sub>2</sub>

**Rdto (%)** = 43

**[α]** -157,4 (c = 1,0 en CHCl<sub>3</sub>)

**<sup>1</sup>H RMN (300 Hz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 7,78 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,32 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 5,50 (sa, 1H), 4,93 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 3,43 (s, 7H), 3,01-2,81 (m, 3H), 2,43 (s, 3H), 1,81-1,71 (m, 1H), 1,71-1,62 (m, 1H), 1,62-1,50 (m, 1H), 1,36-1,16 (m, 2H), 1,16-0,96 (m, 2H).

---

**5.8. Bibliografía**

- 160** (a) Anand, N. *Sulfonamides and Sulfones* **1996**, Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery: Therapeutic Agents, vol. 5, pp. 527-544, editores Alfred Burger y Manfred E. Wolff, publicado por John Wiley & Sons, Inc., ISBN: 0-471-37028-2. (b) Supuran, C. T. y Scozzafava, A. *Expert Opin. Ther. Pat.* **2002**, *12*, 217-242. (c) Scozzafava, A.; Owa, T.; Mastrotorenzo, A. y Supuran, C. T. *Curr. Med. Chem.* **2003**, *10*, 925-953.
- 161** (a) Supuran C. T. y Scozzafava, A. *Curr. Med. Chem. Immunol, Endocr. Metab. Agents* **2001**, *1*, 61-97. (b) Carter, N. F. y Edwards, Y. H. *The Carbonic Anhydrases New Horizons* **2000**, editor W. Richard Chegwidden, publicado por Birkhäuser Verlag, ISBN: 3-7643-5670-7. (c) Sugrue, M. F. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 2793-2809. (d) Sugrue, M. F. *Pharmacol. Ther.* **1989**, *43*, 91-138.
- 162** M. Fournel, M. *et col. Cancer Res.* **2002**, *62*, 4325-4330.
- 163** Mohan, R.; Banerjee, M.; Ray, A.; Manna, T.; Wilson, L.; Owa, T.; Bhattacharyya, B. y Panda, D. *Biochemistry* **2006**, *45*, 5440-5449.
- 164** Hashimoto, K. *et col. Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 799-803.
- 165** Wang, M.; Gao, M.; Miller, K. D.; Sledge, G. W.; Hutchins, G. D. y Zheng, Q-H. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2008**, *51*, 6-11.
- 166** (a) Pawlikowski, A. V.; Getty, A. D. y Goldberg, K. I. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 10382-10393. (b) Christoforou, A. M.; Marzilli, P. A. y Marzilli, L. G. *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 6771-6781. (c) Evans, C.; Henderson, W. y Nicholson, B. K. *Inorg. Chim. Acta* **2001**, *314*, 42-48. (d) Becker, J. J.; White, P. S. y Cagné, M. R. *Inorg. Chem.* **1999**, *38*, 798-801.
- 167** (a) Monks, A. *et col. J. Natl. Cancer Inst.* **1991**, *83*, 757-766. (b) Skehan, P. *et col. J. Natl. Cancer Inst.* **1990**, *82*, 1107-1112.
- 168** (a) Casini, A.; Gabbiani, C.; Michelucci, E.; Pieraccini, G.; Moneti, G.; Dyson, P. J. y Messori, L. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2009**, *14*, 761-770. (b) Casini, A.; Guerri, A.; Gabbiani, C. y Messori, L. *J. Inorg. Biochem.* **2008**, *102*, 995-1006. (c) Hartinger, C. G.; Ang, W. H.; Casini, A.; Messori, L.; Keppler, B. y Dyson, P. J. *J. Anal. At. Spectrom.* **2007**, *22*, 960-967. (d) Casini, A.; Gabbiani, C.; Mastrobuoni, G.; Pellicani, R. Z.; Intini, F. P.; Arnesano, F.; Natile, G.; Moneti, G.; Francese, S. y Messori, L. *Biochemistry* **2007**, *46*, 12220-12230. (e) Casini, A.; Gabbiani, C.; Mastrobuoni, G.; Messori, L.; Moneti, G. y Pieraccini, G. *ChemMedChem* **2006**, *1*, 413-417.
- 169** Kong, P.-C. y Rochon, F. D. *Inorg. Chim. Acta* **1979**, *37*, L457-L458.



## **CAPÍTULO 6**

*Obtención y Ensayos Biológicos de Nuevos Complejos  
Tosilcarbamato de Platino(IV)*





### 6.1. Objetivos

En este último capítulo se abordará la síntesis y evaluación de complejos de platino(IV) con sulfonamidas como ligandos en las posiciones apicales. El objetivo es analizar si la derivatización de los hidroxocomplejos de platino(IV) favorece el aumento de la citotoxicidad, debido a los buenos resultados derivados de la síntesis de los complejos de platino(II) (Capítulo 5).

### 6.2. Antecedentes: derivatización de los grupos hidroxocomplejos de platino(IV)

Según se ha indicado en el capítulo 1, en el epígrafe 1.1.5, los complejos de platino(IV) se idearon como profármacos de los platino(II), debido a su mayor estabilidad en comparación con sus análogos, además, de tener como ventaja la de poder modular su solubilidad (hidrofílico/lipofílico). Desgraciadamente, una de las razones de la infructuosa actividad en el desarrollo de los compuestos de platino(IV) es la dificultad que conlleva la síntesis de los mismos.<sup>170</sup> Por esta razón, solamente unos pocos grupos de investigación han podido obtener y publicar resultados concluyentes. En la bibliografía se pueden encontrar ejemplos de complejos de platino(IV) (figura 36) como aquellos patentados por Farrell<sup>171</sup> que presentan ligandos aromáticos en la posición ecuatorial mientras que los ligandos axiales varían desde cloruros a grupos hidroxocomplejos o éster (a). Lippard *et al.* han descrito la síntesis de nuevos complejos con unidades carbamato en las posiciones apicales,<sup>172</sup> demostrando poseer la mayoría de ellos una mayor actividad citotóxica que la mostrada por el cisplatino (b). Aparte de estos complejos, los mismos autores han desarrollado y evaluado el mitaplatino<sup>61</sup> descrito en la presente tesis, en el capítulo 1 (página 27, epígrafe 1.4.). El grupo de investigación dirigido por Peter J. Sadler se ha centrado, sobre todo, en sintetizar profármacos del cisplatino con grupos azida (c y d),<sup>173</sup> los cuales pueden ser empleados potencialmente como metalofármacos *via* fotoactivación con la ventaja que conlleva el que los complejos sean inertes en oscuridad. Por otro lado, nuestro grupo de investigación fue pionero en la preparación de Pt(IV)-bis(monoglutarato) a partir del cisplatino (e).<sup>90</sup> Los resultados obtenidos muestran un comportamiento interesante del complejo ya que éste induce apoptosis específica en células tumorales cerebrales (gliomas) además de tener una gran facilidad para formar cruzamientos intercatenarios con el ADN. Otra familia de compuestos desarrollados como prodrogas del carboplatino, ha sido recientemente publicada por B. K. Keppler *et al.*,<sup>174</sup> los cuales han diseñado y evaluado biológicamente complejos de platino(IV) con grupos carboxilato en las posiciones apicales (f), donde todos los compuestos evaluados

exhiben citotoxicidades no sólo peores que la del cisplatino sino también que la del carboplatino.

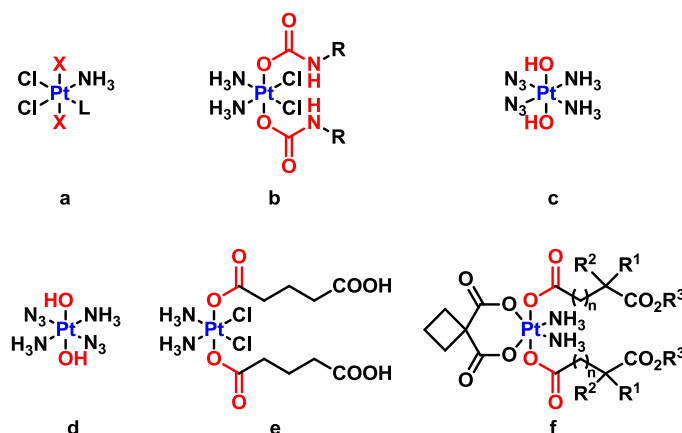
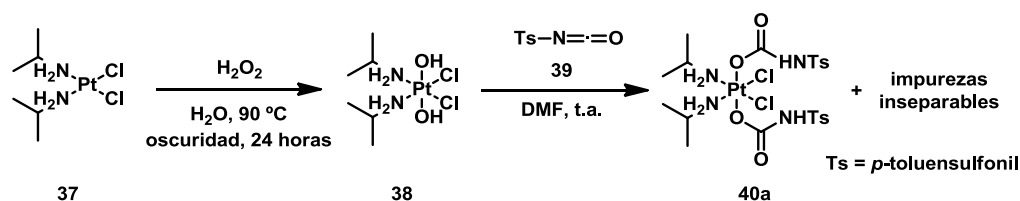


Figura 36

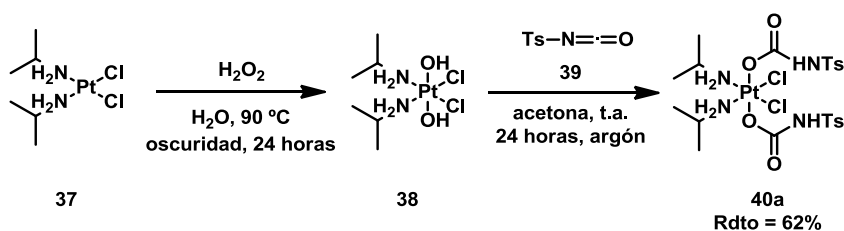
### 6.3. Síntesis de complejos *cis* y *trans* de platino(IV) con grupos tosilcarbamato

Para llevar a cabo la derivatización de los complejos de platino(IV) con grupos hidroxilo en las posiciones apicales, se prepararon estos con la metodología ampliamente descrita en la bibliografía<sup>90-92</sup> (página 68, procedimiento 2.5.2.6.). Posteriormente, se llevó a cabo la síntesis de los complejos deseados mediante reacción directa con el isocianato de *p*-toluenosulfonilo (**39**) en DMF (esquema 29). Estas reacciones condujeron a los correspondientes complejos de platino(IV) con el grupo sulfonilcarbamato en la posición axial. Desafortunadamente, se obtuvieron con impurezas inseparables, siendo por tanto necesaria la búsqueda de nuevas condiciones de reacción que no generaran esos subproductos no identificados.



Esquema 29

Posteriormente, se realizaron cambios en las condiciones de reacción hasta obtener aquellas adecuadas para la síntesis de los compuestos puros y con buenos rendimientos, que consistían en la utilización de acetona, bajo atmósfera inerte y 24 horas de reacción.



Esquema 30

La reacción procedió en todos los casos con muy buenos rendimientos, independientemente de la geometría del complejo (*cis* y *trans*) (véase esquema 30 y tabla 18), llevando a cabo la síntesis de una gran variedad de complejos *trans* (tabla 18), con aminas iguales ( $A = A'$ , entradas 1-2, tabla 18) y distintas (entradas 3-6, tabla 18). A continuación, prodecimos a su estudio de reducción utilizando para ello la técnica Vis-UV.

Tabla 18. Método sintético y rendimientos de los complejos *trans* de platino(IV) 40a-g.<sup>a</sup>

Entrada	Complejo <sup>b</sup>	A	A'	Rdto (%)
1	40b	dimetilamina	dimetilamina	68
2	40c	isopropilamina	isopropilamina	75
3	40d	dimetilamina	isopropilamina	54
4	40e	dimetilamina	ciclohexilamina	68
5	40f	dimetilamina	cicloheptilamina	63
6	40g	isopropilamina	ciclohexilamina	74

<sup>a</sup> Todas las reacciones se llevaron a cabo con 0,2 mmol del complejo de platino(IV) (1 equiv.) en acetona (2 mL) y atmósfera inerte de argón. El isocianato **39** (0,1 mL, 3 equiv.) se adicionó gota a gota a temperatura ambiente, dejando la reacción en agitación durante 24 horas. <sup>b</sup> Los complejos **40a-f** se purificaron mediante lavados, primero, de Et<sub>2</sub>O (para eliminar el exceso de **39**) y, posteriormente, de agua a 40 °C (para eliminar la sulfonamida obtenida de la hidrólisis del isocianato **39**).

### 6.3.1. Estudios de la reducción de los complejos de Pt(IV) a Pt(II) por ascorbato sódico

Está demostrado que los complejos de platino(II) interaccionan con el ADN, y que la concentración de biorreductores en el citosol es mayor que en el plasma. De este

modo, los complejos de platino(IV) dentro de la célula se reducen a los de Pt(II), los cuales forman los aductos Pt-ADN.<sup>175</sup> Además, como se describió en el capítulo 1 (epígrafe 1.1.5.), las biomoléculas con capacidad reductora como el glutatión y el ácido ascórbico son capaces de reducir los complejos de platino(IV) dentro o fuera de la célula,<sup>60,64</sup> siendo más probable la reducción intracelular al ser la concentración de los biorreductores mayor en el citosol que en el plasma.<sup>65</sup> Por tanto, el primer paso a abordar fue el estudio de la reducción de uno de los complejos sintetizados (**40a**) por el ascorbato sódico a 37 °C (temperatura biológica), empleando la técnica espectroscópica UV-Vis. La concentración de **40a** utilizada fue de 0,42 mM y la de ascorbato sódico 2,5 M.<sup>a</sup> Como puede observarse en la figura 36 hay dos picos característicos de absorción del complejo **40a** (236 nm y 313 nm).

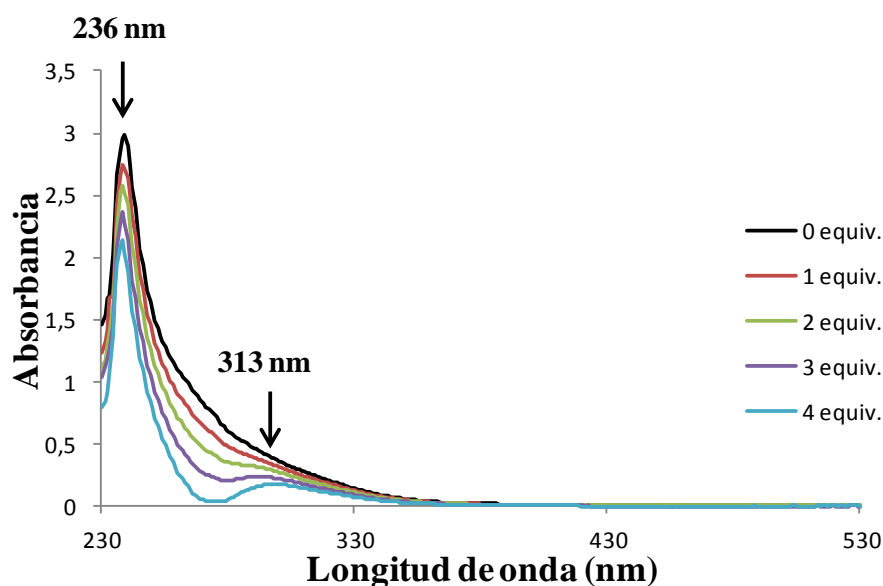


Figura 37

En cada adición creciente de reductor,<sup>b</sup> la intensidad de los picos disminuyó de forma lineal como se puede comprobar en la figura 38. Cada equivalente utilizado de ascorbato sódico provocaba una disminución de la intensidad de la señal del complejo, indicando la facilidad de éste para ser reducido por el ascorbato.

<sup>a</sup> La celda de medición contiene: [complejo de Pt(IV)] = 0,42 mM; [NaHPO<sub>4</sub>] = 1,25 M; [Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>] = 1,25 M y 2% v/v DMSO a pH = 7,1.

<sup>b</sup> Se realizaron ocho adiciones de 84 µl de ascorbato sódico de cada una. El intervalo de espera entre cada adición fue de cinco minutos.

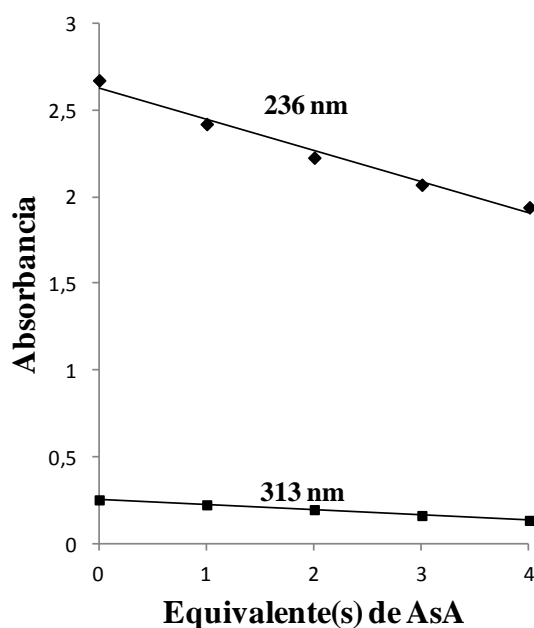


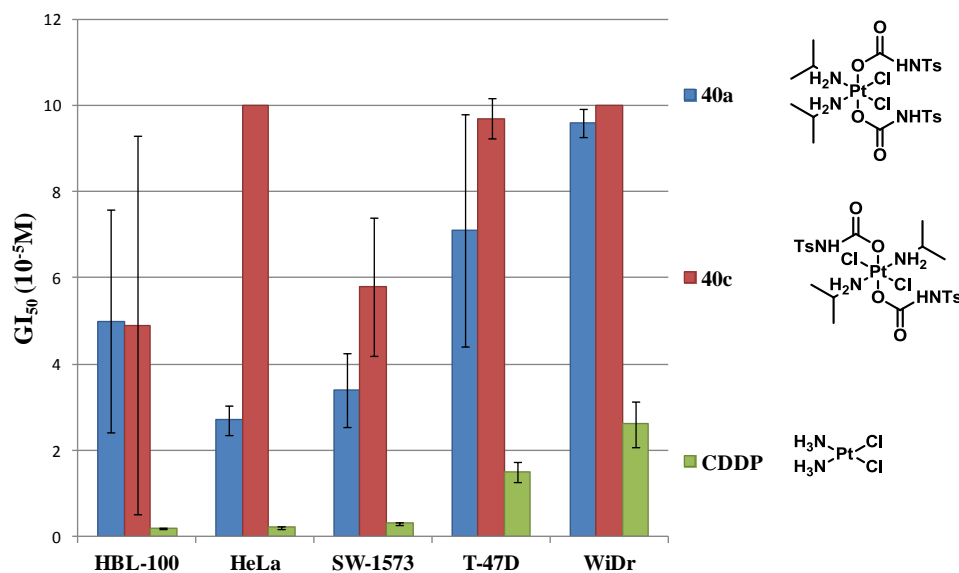
Figura 38

Estos datos ponen de manifiesto que el complejo **40a** se reduciría en el medio intracelular, donde la concentración del ácido ascórbico es superior a la del plasma, y el complejo de Pt(II) resultante formaría los aductos con el ADN que desencadenan la muerte celular.

### 6.3.2. Evaluación citotóxica de los complejos 40a-g

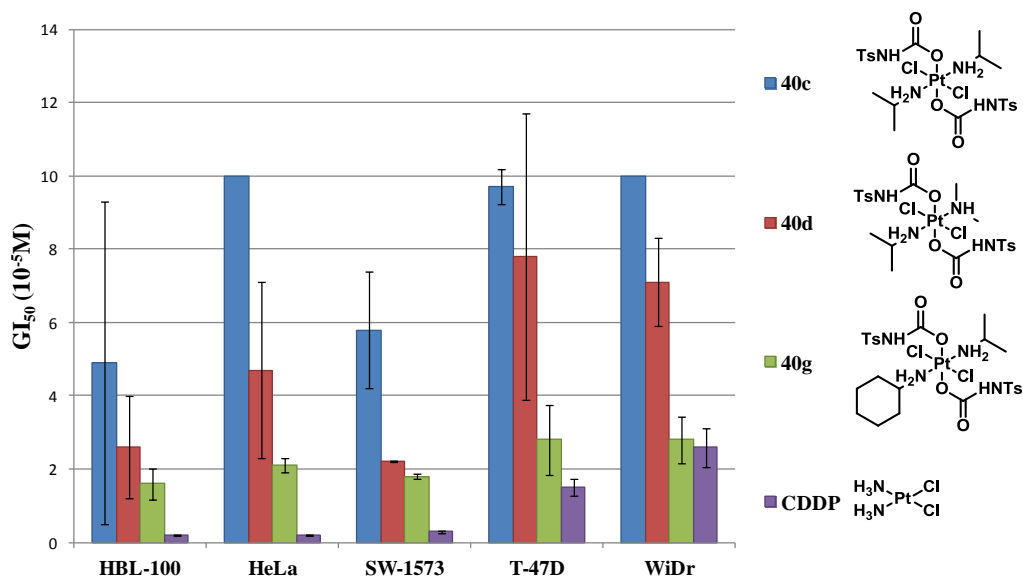
Una vez se comprobó que los complejos podían ser reducidos por ácido ascórbico, se analizó la actividad citotóxica *in vitro* de los complejos de platino(IV) **40a-g** contra un panel de líneas celulares tumorales humanas incluyendo HBL-100 (adenocarcinoma de mama), HeLa (adenocarcinoma de cérvix), SW-1573 (carcinoma alveolar de pulmón), T-47D (carcinoma ductal de mama) y WiDr (adenocarcinoma colorectal). Los valores experimentales de  $GI_{50}$  del cisplatino, también, se recogen en la tabla 19 (véase parte experimental de este capítulo).

Según los datos obtenidos, el complejo con geometría *cis* (**40a**) es más activo que su isómero en *trans* (**40d**) en todas las líneas celulares aunque la citotoxicidad de ambos es mucho menor que la del cisplatino (gráfica 6).



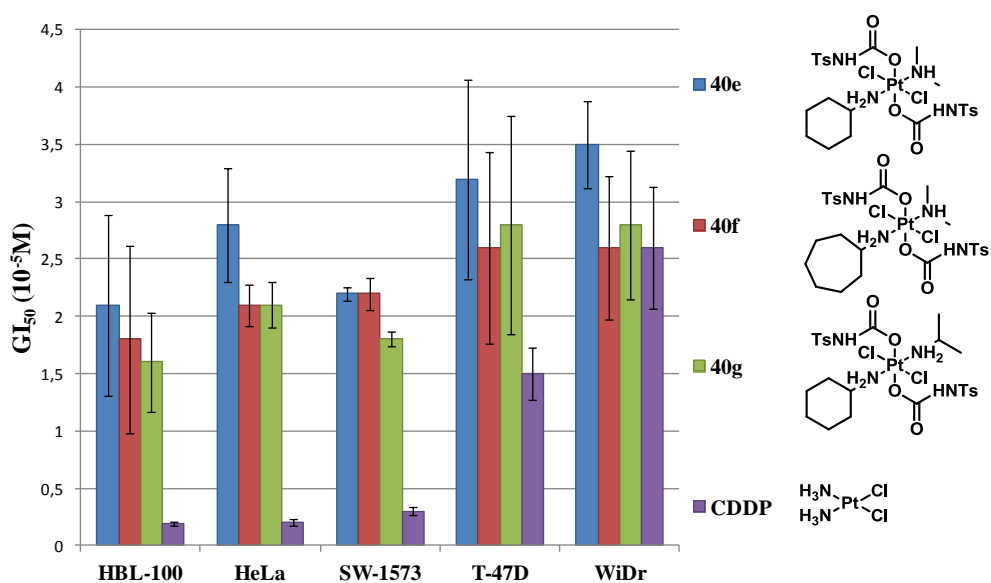
Gráfica 6

Posteriormente, decidimos llevar a cabo una comparación de compuestos *trans* con aminas simétricas y asimétricas tanto entre sí como con el cisplatino. Como se puede observar en la gráfica 7, el compuesto con las aminas simétricas **40c** es mucho menos activo en todas las líneas celulares que los complejos **40d** y **40g** con aminas asimétricas. Es de remarcar que la citotoxicidad de estos últimos compuestos es mayor cuanto más voluminosas sean sus aminas, siendo más activo el complejo **40g** para todas las líneas ensayadas. Así mismo, **40c-d** y **40g** exhibieron una actividad citotóxica menor a la del cisplatino, excepto para la línea de adenocarcinoma colorectal (WiDr), donde el complejo **40g** presenta una actividad anticancerígena parecida a la del CDDP. Por tanto, la siguiente comparación llevada a cabo fue los compuestos portadores de aminas asimétricas voluminosas (**40e-g**) (gráfica 8).



Gráfica 7

En el gráfico 8 puede observarse que a igualdad de amina poco voluminosa como la dimetilamina, la citotoxicidad aumenta al incrementar el impedimento estérico de la amina en trans, es decir, el compuesto **40e** con una dimetilamina en trans a una



Gráfica 8

ciclohexilamina es menos activo que el complejo **40f** con una dimetilamina en trans a una cicloheptilamina. Por otro lado, la sustitución de la dimetilamina en trans a la ciclohexilamina por la isopropilamina supone un aumento en la citotoxicidad del compuesto (**40e** frente a **40g**). Finalmente, salvo en las líneas celulares T-47D y WiDr, el cisplatino es mucho más activo que los complejos sintetizados.

### 6.3.3. Ensayos de fotorreducción con el compuesto **40a**

Como se ha indicado en el punto 1.1.5. del capítulo 1, durante estos últimos años, se han desarrollado métodos eficaces para la reducción de los complejos de Pt(IV) a Pt(II) mediante el uso de fotorradiación.<sup>176</sup> Además y de forma reciente, nuestro grupo de investigación ha llevado a cabo la fotorreducción de complejos trans de Pt(IV), demostrando que el tamaño de las aminas utilizadas determina la velocidad de reducción de dichos complejos.<sup>177</sup> Es por ello que pensamos, debido a la baja citotoxicidad de estos compuestos, que el empleo de fotorradiación podría suponer un incremento en la actividad antitumoral de los complejos obtenidos.

Inicialmente, se realizó el seguimiento de la reducción del complejo, después de haber sido irradiado con luz UV, pudiéndose observar que después de dos horas las curvas obtenidas eran similares a la inicial (figura 39).<sup>c</sup> En la figura 40 se observa que no hay apenas variación en los dos picos de absorción más característicos del complejo **40a** los cuales fueron obtenidos previamente (figura 37).

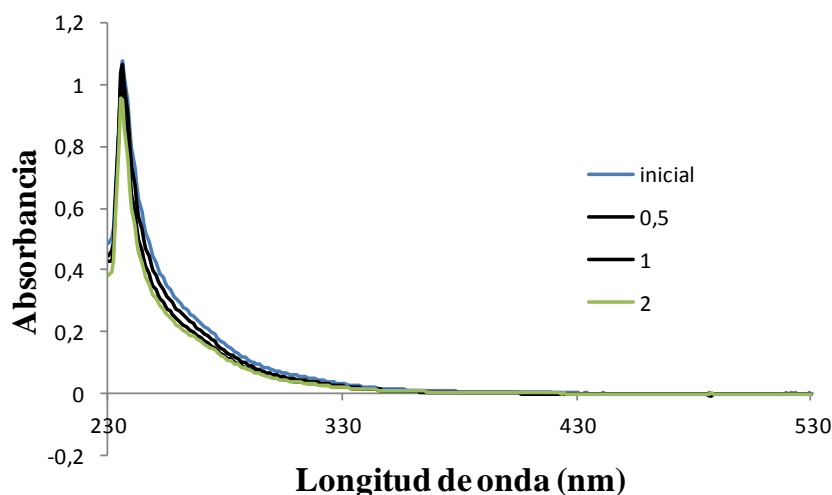


Figura 39

<sup>c</sup> La celda de medición contiene: [complejo de Pt(IV)] = 0,3 mM; [NaHPO<sub>4</sub>] = 1,25 M; [Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>] = 1,25 M y 2% v/v DMSO a pH = 7,1.



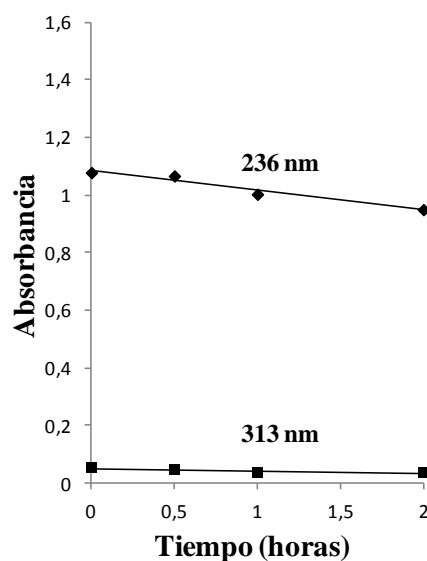


Figura 40

Finalmente, quisimos comprobar qué le sucedía a la muestra si era irradiada en presencia de ascorbato sódico (condiciones similares a las que habría en una célula fotorradiada). De este modo, se llevaron a cabo simultáneamente dos experimentos. Por un lado, se midieron las curvas de absorbancia para seguir la reducción del complejo **40a** en presencia de ascorbato sódico sin el efecto de la luz y, por el otro, se midieron las curvas después de que el complejo estuviera sometido a luz UV. Previamente, se prepararon concentraciones del complejo **40a** (0,3 mM) y del ascorbato de sodio (2,5 M). A continuación se añadieron 60  $\mu$ l de ascorbato sódico sobre la disolución del compuesto de platino (**40a**), siendo separadas dos alícuotas de la disolución resultante.<sup>d</sup> Con una se procedió a realizar las medidas en el espectrómetro Vis-UV sin tratamiento de luz UV mientras que la otra era irradiada en cuatro periodos de media hora cada uno.

Los resultados obtenidos de la muestra sin someterse a la luz UV están representados en la figura 41, donde se muestran las curvas obtenidas cada media hora, hasta las dos horas desde el comienzo del experimento.

<sup>d</sup> En los dos ensayos realizados, la celda de medición contiene: [complejo de Pt(IV)] = 0,3 mM; [NaHPO<sub>4</sub>] = 1,25 M; [Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>] = 1,25 M; 2% v/v DMSO y [ascorbato sódico] = 0,03 mM a pH = 7,1.

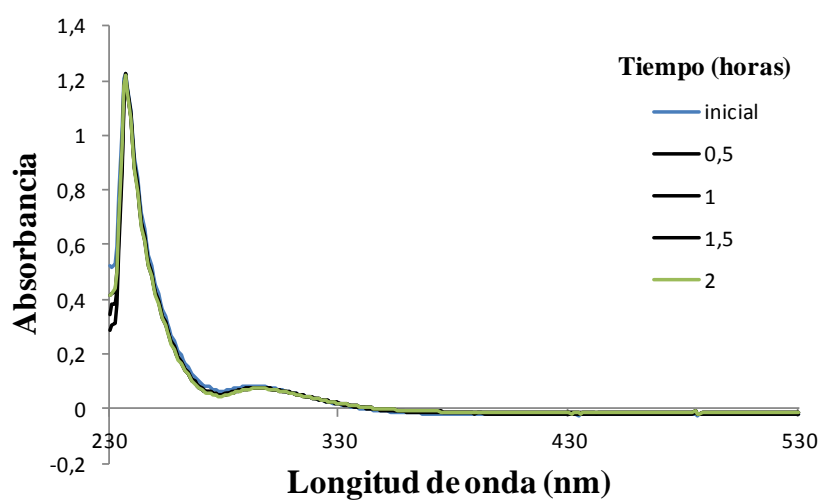


Figura 41

Como era de esperar, no se producen cambios significativos en los máximos de absorbancia, manteniéndose en ambos la intensidad a lo largo de las dos horas del experimento (figura 42).

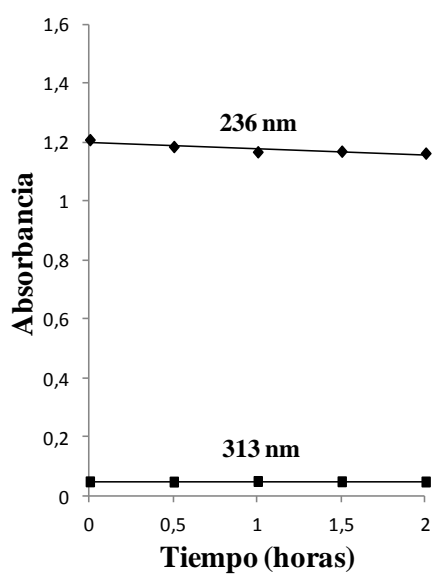


Figura 42

Finalmente, el tratamiento de la muestra con luz UV durante media hora produjo un perfil distinto en las curvas de absorción (figura 43), observándose un descenso brusco en los máximos de absorción a 236 nm y a 313 nm.

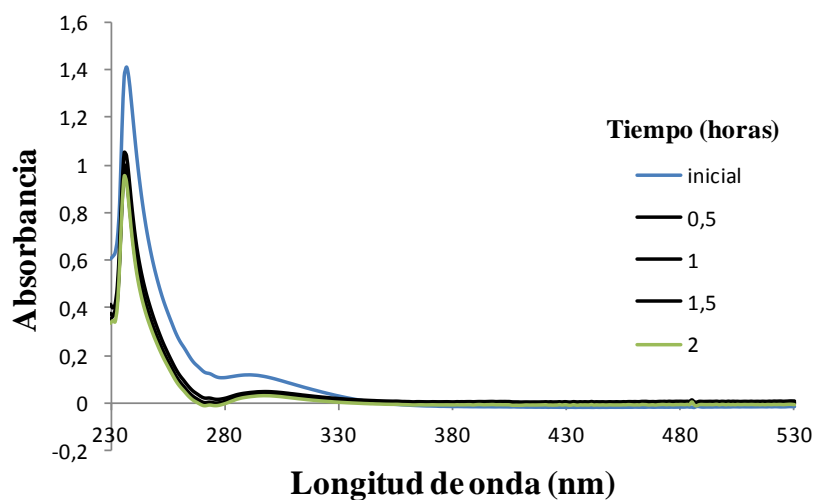


Figura 43

Como muestra la figura 44, la reducción no tiene forma lineal sino exponencial, indicando que la presencia de luz UV favorece la acción del reductor el cual se consume en menos de una hora.

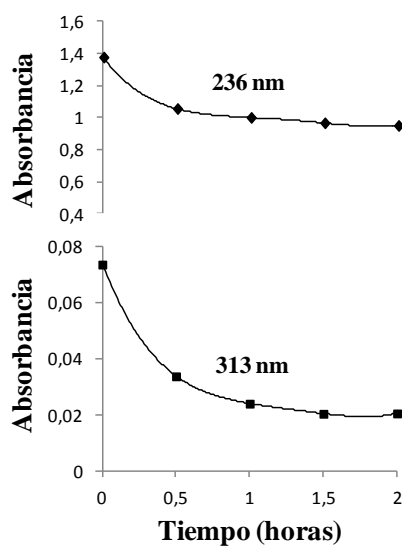


Figura 44

Como resumen de los ensayos realizados, se puede concluir que el ascorbato sódico es necesario para incrementar el efecto de la luz y que, sin el biorreductor, ésta no es apenas capaz de reducir al complejo. Esto sugiere que la realización de un ensayo con

células sometidas a luz UV supondría una ventaja desde el punto de vista de la citotoxicidad y de la especificidad. El complejo necesita estar en su forma reducida para formar los aductos con el ADN y, por los datos obtenidos, además, requiere de una concentración alta de ascorbato de sodio para que la luz produzca su efecto reductor. Así, el complejo no será reducido a no ser que se cumplan dos condiciones: estar en el líquido intracelular y recibir luz UV.

#### **6.4. Conclusiones**

Como conclusiones de los resultados obtenidos en este epígrafe, se puede afirmar que:

- a) Los complejos *cis* de platino(IV) con ligandos apicales *p*-tosilcabamato muestran mayor citotoxicidad que los *trans*.
- b) Para llevar a cabo la fotorreducción de los complejos es necesaria la presencia tanto de luz UV como de un reductor (ascorbato sódico), produciéndose ésta rápidamente, en tiempos menores a dos horas.

## 6.5. Parte experimental

### 6.5.1. Materiales e instrumentación

Se siguieron los procedimientos descritos en el epígrafe 2.5.1. Adicionalmente, los espectros de absorción electrónica se recogieron utilizando el espectrómetro Agilent 8452 en el rango 190-1100 nm range con celdas de 1 cm de cuarzo termostatzadas por el criostato Unisoku con rango de (-100)-100 °C.

### 6.5.2. Estudios de reducción por cantidades crecientes de ascorbato sódico

A una concentración de complejo **40a**  $4,2 \cdot 10^{-4}$  M se le adicionan 84 µl de una concentración de ascorbato sódico 2,5 M hasta los cuatro equivalentes de reductor frente a un equivalente de compuesto. Las medidas de la absorción UV-Vis se realizaron a 37 °C cada cinco minutos.

### 6.5.3. Ensayos de citotoxicidad

Para la realización del estudio con las líneas celulares HBL-100 (adecocarcinoma de mama), HeLa (adenocarcinoma de cérvix), SW-1573 (carcinoma alveolar de pulmón), T-47D (carcinoma ductal de mama) y WiDr (adenocarcinoma colorectal) se disolvieron los compuestos **40a-g** inicialmente a una concentración 400 veces mayor que la mayor final deseada. El control de células fue expuesto a una concentración de un equivalente de DMSO (0,25% v/v, control negativo). Cada compuesto fue ensayado por triplicado a diferentes diluciones en el rango de 1-100 µM. El tratamiento del fármaco se

**Tabla 19.** Índice de inhibición del 50% del crecimiento celular ( $GI_{50}$ ) de **41a-g** en comparación con el cisplatino en células tumorales humanas.<sup>a</sup>

Entrada	Complejo	$GI_{50}$ (µM) <sup>b</sup>				
		HBL-100	HeLa	SW-1573	T-47D	WiDr
1	<b>40a</b>	50,0 (±26,0)	27,0 (±3,5)	34,0 (±8,6)	71,0 (±27,0)	96,0 (±3,2)
2	<b>40b</b>	49,0 (±45,0)	96,0 (±7,1)	26,0 (±1,9)	82,0 (±32,0)	> 100
3	<b>40c</b>	26,0 (±14,0)	47,0 (±24,0)	22,0 (±0,2)	78,0 (±39,0)	71,0 (±12,0)
4	<b>40d</b>	49,0 (±44,0)	> 100	58,0 (±16,0)	97,0 (±4,7)	> 100
5	<b>40e</b>	21,0 (±7,9)	28,0 (±5,0)	22,0 (±0,6)	32,0 (±8,7)	35,0 (±3,8)
6	<b>40f</b>	18,0 (±8,2)	21,0 (±1,8)	22,0 (±1,4)	26,0 (±8,4)	26,0 (±6,3)
7	<b>40g</b>	16,0 (±4,3)	21,0 (±2,0)	18,0 (±0,7)	28,0 (±9,5)	28,0 (±6,5)
8	<b>CDDP</b>	1,9 (±0,2)	2,0 (±0,3)	3,0 (±0,4)	15,0 (±2,3)	26,0 (±5,3)

<sup>a</sup> Los datos se obtuvieron después de 48 horas de exposición al fármaco. <sup>b</sup> Los valores que se recogen en la tabla corresponden al  $GI_{50}$  (± desviación estándar de 3 experimentos independientes).

comenzó un día después del último pase. El tiempo de incubación de los compuestos fue de 48 horas. Pasado ese tiempo, las células se precipitaron con 25  $\mu\text{L}$  de TCA y hielo seco (50% p/v) y se fijaron durante 60 minutos a 4 °C. Entonces, se realizó el ensayo SRB. La densidad óptica (OD) de cada pocillo fue medido a 492 nm, utilizando BioTek's PowerWave XS Absorbance Microplate Reader.

#### **6.5.4. Estudios de fotorreducción en presencia de reductor**

A una concentración de complejo **40a**  $3,0 \cdot 10^{-4}$  M se le adicionaron 60  $\mu\text{L}$  de una concentración de ascorbato sódico 2,5 M que corresponden a 0,5 equivalente de reductor frente a 1 equivalente de compuesto. Las medidas de la absorción UV-Vis se realizaron a 37 °C cada cinco minutos hasta las dos horas. La intensidad media de luz UV que recibió la celda fue de  $2,02 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2}$ .

#### **6.5.5. Estudios de fotorreducción en ausencia de reductor**

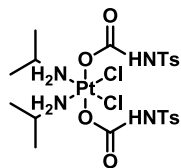
Las medidas de la absorción UV-Vis se realizaron a una concentración de complejo **40a**  $3,0 \cdot 10^{-4}$  M a 37 °C cada quince minutos, hasta las cuatro horas. La intensidad media de luz UV que recibió la celda fue de  $1,98 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2}$ .

#### **6.5.6. Síntesis de materiales de partida**

Los reactivos de partida comerciales y los disolventes se emplearon sin realizar ninguna purificación posterior. Los compuestos de platino(IV) fueron sintetizados de acuerdo con los procedimientos encontrados en la bibliografía:<sup>89,95</sup> (a) complejos *trans*-Pt(IV) **42** y (b) complejo *cis*-Pt(IV) **38**.

#### **6.5.7. Procedimiento general para la síntesis de complejos de platino(IV) con sustituyentes carbamato en las posiciones apicales**

A una suspensión del correspondiente complejo de platino(IV) (0,2 mmol) en acetona seca (2 mL) se le añade gota a gota el isocianato de *p*-toluenosulfonilo (0,1 mL, 3 equivalentes) bajo atmósfera de argón. La mezcla continua en agitación a temperatura ambiente durante 24 horas. Transcurrido ese tiempo, se adicionan 50 mL de Et<sub>2</sub>O provocando la aparición de un precipitado amarillo, que se filtra, se lava con agua templada (40 °C) y se seca a vacío durante 24 horas, dando lugar a los complejos de platino(IV) puros **40a-g**.

**cis-Dicloro-cis-bis(isopropilamina)-trans-bis(tosilcarbamato) platino(IV) (40a)****Fórmula molecular:**  $C_{22}H_{34}Cl_2N_4O_8PtS_2$ **Rdto (%)** = 62

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 6.5.7. como sólido amarillo pálido .

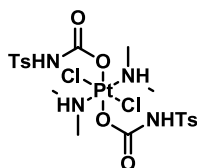
**$^1H$  RMN (300 Hz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta$  11,27 (sa, 2H), 7,75 (d,  $J$  = 7,5 Hz, 4H), 7,36 (d,  $J$  = 7,4 Hz, 2H), 7,10 (sa, 4H), 3,12-2,93 (m, 2H), 2,37 (s, 6H), 0,99 (d,  $J$  = 5,6 Hz, 12H).

**$^{13}C$  RMN (75 Hz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta$  158,7 (C), 143,6 (C), 138,1 (C), 129,6 (CH), 127,9 (CH), 48,3 (CH), 22,7 ( $CH_3$ ), 21,5 ( $CH_3$ ).

**$^{195}Pt$  RMN (64 Hz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta$  1362,1.

**MS-ESI $^+$ :**  $[M+H]^+$  calculado para  $C_{22}H_{35}Cl_2N_4O_8PtS_2$  812,0917; encontrado 812,0854.

**Análisis elemental:** calculado para  $C_{22}H_{34}Cl_2N_4O_8PtS_2$ : C, 32,52; H, 4,22; N, 6,89. Encontrado: C, 32,24; H, 4,23; N, 6,77.

**trans-Dicloro-trans-bis(dimetilamina)-trans-bis(tosilcarbamato) platino(IV) (40b)****Fórmula molecular:**  $C_{20}H_{30}Cl_2N_4O_8PtS_2$ **Rdto (%)** = 68

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 6.5.7. como sólido amarillo pálido .

**$^1H$  RMN (300 Hz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta$  11,16 (sa, 2H), 8,08 (sa, 2H), 7,74 (d,  $J$  = 8,1 Hz, 4H), 7,39 (d,  $J$  = 7,9 Hz, 4H), 2,38 (s, 6H), 2,23 (s, 6H), 2,21 (s, 6H).

**$^{13}C$  RMN (75 Hz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta$  156,6 (C), 143,9 (C), 137,8 (C), 129,9 (CH), 127,6 (CH), 43,6 ( $CH_3$ ), 21,5 ( $CH_3$ ).

**$^{195}Pt$  RMN (64 Hz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta$  1159,4.

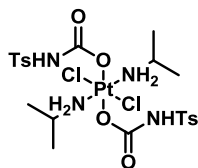
**MS-ESI $^+$ :**  $[M+H]^+$  calculado para  $C_{20}H_{31}Cl_2N_4O_8PtS_2$  784,0604; encontrado 784,0560.

**Análisis elemental:** calculado para  $C_{20}H_{30}Cl_2N_4O_8PtS_2$ : C, 30,62; H, 3,85; N, 7,14. Encontrado: C, 31,15; H, 3,90; N, 6,96.

---

***trans*-Dicloro-*trans*-bis(isopropilamina)-*trans*-bis(tosilcarbamato) platino(IV) (40c)**


---


**Fórmula molecular:**  $C_{22}H_{34}Cl_2N_4O_8PtS_2$ 
**Rdto (%) = 75**

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 6.5.7. como sólido amarillo pálido .

**$^1H$  RMN (300 Hz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta$  11,09 (sa, 2H), 7,73 (d,  $J$  = 7,8 Hz, 4H), 7,38 (d,  $J$  = 7,7 Hz, 4H), 6,64 (sa, 4H), 3,14-3,00 (m, 2H), 2,38 (s, 6H), 1,07 (d,  $J$  = 6,1 Hz, 12H).

**$^{13}C$  RMN (75 Hz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta$  157,3 (C), 143,9 (C), 137,8 (C), 129,8 (CH), 127,7 (CH), 47,6 (CH), 22,5 (CH<sub>3</sub>), 21,5 (CH<sub>3</sub>).

**$^{195}Pt$  RMN (64 Hz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta$  1156,7.

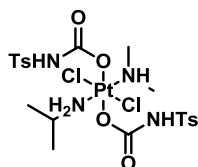
**MS-ESI<sup>+</sup>:** [M+Na]<sup>+</sup> calculado para  $C_{22}H_{34}Cl_2N_4O_8PtS_2Na$  834,0737; encontrado 834,0673.

**Análisis elemental:** calculado para  $C_{22}H_{34}Cl_2N_4O_8PtS_2$ : C, 32,52; H, 4,22; N, 6,89. Encontrado: C, 32,24; H, 4,19; N, 6,68.

---

***trans*-Dicloro-*trans*-(dimetilamina)(isopropilamina)-*trans*-bis(tosilcarbamato) platino(IV) (40d)**


---


**Fórmula molecular:**  $C_{21}H_{32}Cl_2N_4O_8PtS_2$ 
**Rdto (%) = 54**

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 6.5.7. como sólido amarillo pálido .

**$^1H$  RMN (300 Hz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta$  11,21 (sa, 2H), 7,74 (d,  $J$  = 8,0 Hz, 4H), 7,59 (sa, 2H), 7,38 (d,  $J$  = 8,0 Hz, 4H), 7,21 (sa, 1H), 3,10-2,92 (m, 1H), 2,38 (s, 6H), 2,24 (s, 3H), 2,23 (s, 3H), 0,88 (d,  $J$  = 6,3 Hz, 6H).

**$^{13}C$  RMN (75 Hz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta$  157,1 (C), 144,0 (C), 137,6 (C), 129,8 (CH), 127,7 (CH), 48,3 (CH), 42,4 (CH<sub>3</sub>), 21,8 (CH<sub>3</sub>), 21,4 (CH<sub>3</sub>).

**$^{195}Pt$  RMN (64 Hz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta$  1141,1.

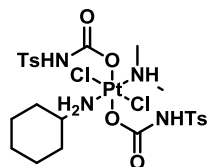
**MS-ESI<sup>+</sup>:** [M+H]<sup>+</sup> calculado para  $C_{21}H_{33}Cl_2N_4O_8PtS_2$  798,0761; encontrado 798,0754.

**Análisis elemental:** calculado para  $C_{20}H_{30}Cl_2N_4O_8PtS_2$ : C, 30,62; H, 3,85; N, 7,14.



Encontrado: C, 31.15; H, 3.90; N, 6.96.

***trans*-Dicloro-*trans*-(ciclohexilamina)(dimetilamina)-*trans*-bis(tosilcarbamato) platino(IV) (40e)**



**Fórmula molecular:** C<sub>24</sub>H<sub>36</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>PtS<sub>2</sub>

**Rdto (%) = 68**

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 6.5.7. como sólido amarillo pálido .

**<sup>1</sup>H RMN (300 Hz, DMSO-d<sub>6</sub>):** δ 11,17 (sa, 2H), 7,72 (d, *J* = 8,2 Hz, 4H), 7,68 (sa, 2H), 7,36 (d, *J* = 8,1 Hz, 4H), 7,11 (sa, 1H), 2,58-2,46 (m, 1H), 3,36 (s, 6H), 2,23 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 1,57-1,35 (m, 5H), 0,99-0,64 (m, 5H).

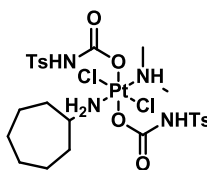
**<sup>13</sup>C RMN (75 Hz, DMSO-d<sub>6</sub>):** δ 157,5 (C), 143,8 (C), 137,7 (C), 129,7 (CH), 127,9 (CH), 55,3 (CH), 42,3 (CH<sub>3</sub>), 31,9 (CH<sub>2</sub>), 25,2 (CH<sub>2</sub>), 24,9 (CH<sub>2</sub>), 21,5 (CH<sub>3</sub>).

**<sup>195</sup>Pt RMN (64 Hz, DMSO-d<sub>6</sub>):** δ 1134,2.

**MS-ESI<sup>+</sup>:** [M+H]<sup>+</sup> calculado para C<sub>24</sub>H<sub>37</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>PtS<sub>2</sub>Na 838,1074; encontrado 838,1047.

**Análisis elemental:** calculado para C<sub>24</sub>H<sub>36</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>PtS<sub>2</sub>: C, 34,37; H, 4,33; N, 6,68. Encontrado: C, 34,22; H, 4,34; N, 6,57.

***trans*-Dicloro-*trans*-(cicloheptilamina)(dimetilamina)-*trans*-bis(tosilcarbamato) platino(IV) (40f)**



**Fórmula molecular:** C<sub>25</sub>H<sub>38</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>PtS<sub>2</sub>

**Rdto (%) = 63**

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 6.5.7. como sólido amarillo pálido .

**<sup>1</sup>H RMN (300 Hz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 7,85 (d, *J* = 8,2 Hz, 4H), 7,50 (sa, 2H), 7,30 (d, *J* = 8,2 Hz, 4H), 7,11 (sa, 2H), 6,45 (sa, 1H), 2,99-2,83 (m, 1H), 2,48 (s, 3H), 2,46 (s, 3H), 2,43 (s, 6H), 1,87-1,73 (m, 2H), 1,71-1,16 (m, 10H).

**$^{13}\text{C}$  RMN (75 Hz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  156,4 (C), 144,5 (C), 136,2 (C), 129,5 (CH), 128,0 (CH), 58,3 (CH), 43,0 ( $\text{CH}_3$ ), 34,0 ( $\text{CH}_2$ ), 27,4 ( $\text{CH}_2$ ), 23,9 ( $\text{CH}_2$ ), 21,6 ( $\text{CH}_3$ ).

**$^{195}\text{Pt}$  RMN (64 Hz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  1087,3.

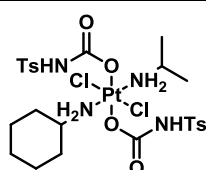
**MS-ESI $^+$ :**  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{24}\text{H}_{37}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_8\text{PtS}_2\text{Na}$  852,1230; encontrado 852,1213.

**Análisis elemental:** calculado para  $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_8\text{PtS}_2$ : C, 35,21; H, 4,49; N, 6,57. Encontrado: C, 35,09; H, 4,53; N, 6,43.

---

***trans*-Dicloro-*trans*-(ciclohexilamina)(isopropilamina)-*trans*-bis(tosilcarbamato) platino(IV) (40g)**

---



**Fórmula molecular:**  $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_8\text{PtS}_2$

**Rdto (%) = 74**

El producto se obtuvo directamente siguiendo el procedimiento 6.5.7. como sólido amarillo pálido .

**$^1\text{H}$  RMN (300 Hz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):**  $\delta$  11,09 (sa, 2H), 7,73 (d,  $J = 7,7$  Hz, 4H), 7,37 (d,  $J = 6,5$  Hz, 4H), 6,72 (sa, 2H), 6,48 (sa, 2H), 3,15-3,00 (m, 1H), 2,74-2,58 (m, 1H), 2,38 (s, 6H), 1,81-1,70 (m, 2H), 1,57-1,44 (m, 3H), 1,11 (d,  $J = 5,7$  Hz, 6H), 1,19-0,84 (m, 5H).

**$^{13}\text{C}$  RMN (75 Hz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):**  $\delta$  157,5 (C), 143,6 (C), 138,3 (C), 129,6 (CH), 127,8 (CH), 54,6 (CH), 47,4 (CH), 32,2 ( $\text{CH}_2$ ), 25,3 ( $\text{CH}_2$ ), 24,9 ( $\text{CH}_2$ ), 22,6 ( $\text{CH}_3$ ), 21,5 ( $\text{CH}_3$ ).

**$^{195}\text{Pt}$  RMN (64 Hz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):**  $\delta$  1153,1.

**MS-ESI $^+$ :**  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{25}\text{H}_{39}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_8\text{PtS}_2\text{Na}$  852,1230; encontrado 852,1208.

**Análisis elemental:** calculado para  $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_8\text{PtS}_2$ : C, 35,21; H, 4,49; N, 6,57. Encontrado: C, 34,98; H, 4,54; N, 6,52.

---

**6.5. Bibliografía**

- 170** (a) Reithofer, M. R.; Valiahdi, S. M.; Jakupec, M. A.; Arion, V. B.; Egger, A.; Galanski, M. y Keppler, B. K. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 6692-6699. (b) Ang, W. H.; Pilet, S.; Scopelliti, R.; Bussy, F.; Juillerat-Jeanneret, L. y Dyson, P. J. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 8060-8069. (c) Galanski, M. y Keppler, B. K. *Inorg. Chim. Acta.* **1997**, *265*, 271-274. (d) Galanski, M. y Keppler, B. K. *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 1709-1711. (e) Barnard, C. F. J.; Vollano, J. F.; Chaloner, P. A. y Dewa, S. Z. *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 3280-3284.
- 171** Farrell, N. *Trans platinum(IV) complexes* 29 de Abril del **1997**, patente US 5624919.
- 172** Wilson, J. J. y Lippard, S. J. *Inorg. Chem.* **2011**, *50*, 3103-3115.
- 173** (a) Farrer, N. J.; Woods, J. A.; Munk, V. P.; Mackay, F. S. y Sadler, P. J. *Chem. Res. Toxicol.* **2010**, *23*, 413-421. (b) Bednarski, P. J.; Mackay, F. S. y Sadler, P. J. *Anticancer Agents Med. Chem.* **2007**, *7*, 75-93. (c) Müller, P.; Schröder, B.; Parkinson, J. A.; Kratochwil, N. A.; Coxall, R. A.; Parkin, A.; Parson, S. y Sadler, P. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 335-339.
- 174** Varbanov, H. P.; Valiahdi, S. M.; Kowol, C. R.; Jakupec, M. A.; Galanski, M. y Keppler, B. K. *Dalton Tans.* **2012**, DOI:10.1039/C2DT31366A.
- 175** Hall, M. D.; Amjadi, S.; Zhang, M.; Beale, P.J. y Hambley, T.W. *J. Inorg. Biochem.* **2004**, *98*, 1614-1624.
- 176** (a) Véase referencia 173a. (b) Farrer, N. J.; Salassa, L. y Sadler, P. J. *Dalton Trans.* **2009**, 10690-10701. (c) Phillips, H. I. A.; Ronconi, L. y Sadler, P. J. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 1588-1596. (d) Mackay, F. S.; Farrer, N. J.; Salassa, L.; Tai, C-H.; Deeth, R. J.; Moggach, S. A.; Wood, P. A.; Parsons, A. y Sadler, P. J. *Dalton Trans.* **2009**, 2315-2325. (e) Véase referencia 173 c.
- 177** Cubo, L.; Pizarro, A. M.; Quiroga, A. G.; Salassa, L.; Navarro-Ranninger, C. y Sadler, P. J. *J. Inorg. Biochem.* **2010**, *104*, 909-918.
- 178** (a) Al-Bahlani, S.; Fraser, M.; Wong, A. Y.; Sayan, B. S.; Bergeron, R.; Melino, G. y Tsang, B. K. *Oncogene* **2011**, *30*, 4219-4230. (b) Florea, A. M. y Büsselberg, D. *Neurotoxicology* **2009**, *30*, 803-810.



## **ANEXO I**

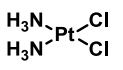
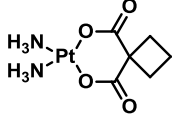
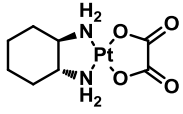
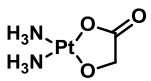
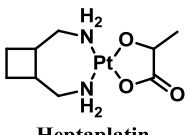
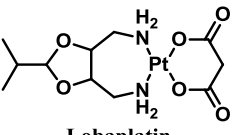
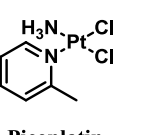
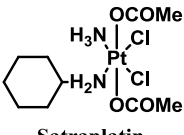
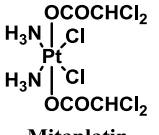
*Summary, conclusions and publications*



### A.1. Summary, objectives and conclusions

Since the discovery of the anticancer activity of cisplatin<sup>3</sup> almost 50 years ago, platinum complexes have played an important role in the treatment of several malignant solid tumors.<sup>26</sup> However, cisplatin has limitations as anticancer drug<sup>29-30</sup> and these limitations have been stimulated the search for other antitumor-active platinum complexes with improved pharmacological properties. The two main goals in the search for new platinum anti-cancer agents are the reduction of the dose-limiting toxicities of cisplatin and the circumvention of cisplatin resistance. In this sense, carboplatin and oxaliplatin have been developed to decrease these problems;<sup>31,33</sup> unfortunately, these drugs can cause serious adverse effects, as well.<sup>32,34</sup> Other, several new platinum complexes are in clinical trials such as nedaplatin, heptaplatin, lobaplatin, and picoplatin which are platinum(II) complexes. Satraplatin and mitaplatin are platinum(IV) examples which are in phase III and phase I, respectively.

**Table 1.** Approved platinum complexes and some Pt(II) and Pt(IV) compounds on clinical trials.<sup>35</sup>

			
Cisplatin	Carboplatin	Oxaliplatin	Nedaplatin
			
Heptaplatin	Lobaplatin	Picoplatin	Satraplatin
			
Mitaplatin			

Complex	Use	Current status
Cisplatin	Head and neck, testicular, ovarian, cervical, and small cell lung cancer (SCLC)	Approved (world-wide)
Carboplatin	Head and neck, testicular, lung, ovarian and cervical cancer, and SCLC	Approved (world-wide)
Oxaliplatin	Colorectal cancer	Approved (world-wide)
Nedaplatin	Head and neck, testicular, lung, ovarian, and cervical cancer, and non-SCLC	Approved (Japan) phase II (USA)
Heptaplatin	Gastric and head and neck cancer, and SCLC	Approved (South Korea)
Lobaplatin	Esophagus and ovarian cancer, metastatic breast, chronic myelogenous leukemia (CML), and SCLC	Approved (China) phase III (USA)
Picoplatin	SCLC	Phase III
Satraplatin	Prostate cancer	Phase III
Mitaplatin	Without data	Phase I

It is well accepted that cisplatin cytotoxic mode of action is due to its interaction with DNA.<sup>50</sup> The formation of cisplatin-DNA adducts causes a disruption in DNA replication and transcription which usually induces programmed death or apoptosis. Additionally, cisplatin damages tumors via induction of apoptosis, mediated by the activation of various signal transduction pathways, including calcium signaling,<sup>178</sup> death receptor signaling, and the activation of mitochondrial pathways.<sup>179</sup> Moreover, sulfur-containing molecules, like metallothioneins and glutathiones, have a high affinity for platinum and could bind to it before the drug can reach the nucleus.<sup>180</sup> Overall, a better understanding of the molecular mechanisms behind the modulation of cellular responses and a better knowledge in the advances in biocoordination chemistry are crucial for improving the design of compounds, which could reduce toxic side effects, and for optimizing new therapeutic strategies for the use of CDDP.

On the other hand, and due to platinum(II)-based anticancer drugs are associated with high reactivity and poor biological stability,<sup>30-32</sup> platinum(IV) complexes have attracted much interest recently as alternatives to the existing platinum(II) based clinical drugs.<sup>181</sup> Platinum(IV) complexes are thought to act as prodrugs for anticancer Pt(II) drugs and they can display potential advantages because of their greater stability and bio-reductive activation thereby allowing a greater proportion of the prodrug to arrive at the target intact. The activity of platinum(IV) complexes generally involves reduction with loss of the axial ligands, affording an active platinum(II) complex that readily binds to DNA. The reduction potentials of platinum(IV) complexes are dependent on the nature of the axial and equatorial ligands, but the axial ligands generally exert the stronger influence.<sup>60</sup> Recently, this sense have changed and there are several platinum(IV) complexes with a wide range anticancer activity.<sup>182</sup> Moreover, the ability to tether platinum(IV) complexes via the axial ligands to any atom or compound has allowed to improve them. For example, the presence of axial chloride or acetate ligands results in a slightly higher lipophilicity compared with the platinum(II) analog.<sup>183</sup> As well, platinum(IV) compounds with bioactive axial groups that include oestrogen, doxorubicin and related moieties have been reported.<sup>184</sup> Despite these efforts and the potential advantages offered by platinum(IV) complexes, relatively few have been developed and undergone. Tetraplatin, iproplatin, and satraplatin were the only three platinum(IV) complexes which have entered in clinical trials. Regrettably, satraplatin is the only of those which was not abandoned.<sup>185</sup>



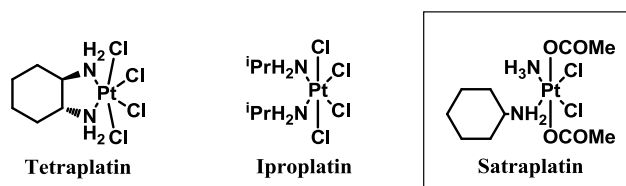


Figure 1

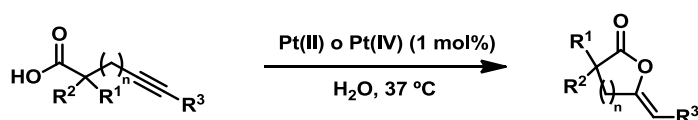
The search for new anticancer platinum drugs is a complex task, since the mechanism of action of these complexes is unclear. Therefore, in this Ph. D. thesis, we firstly focused on the study of platinum compounds interactions with other biomolecules different for DNA such as fatty acids – which are fundamental components of the cell membrane, and precursors of eicosanoids as prostaglandins or leucotrienes. These complexes would catalyze and modify other molecules, and therefore induce adverse effects.

On the other hand, we have designed new platinum(II) and platinum(IV) complexes with sulfonamide ligands which have been evaluated against different cancer cell lines. Furthermore, we have focused our study on the chemical structure and the structure-activity relationships (SAR) of these new platinum complexes.

This Ph. D. Thesis has the following objectives:

#### A.1.1. Antitumoral platinum complexes as catalysts in aqueous media (Chapter 2)

We will report that platinum(II) and platinum(IV) complexes, with geometry *cis* and *trans*, are extremely effective catalysts for cyclization of alkyne-acids to enol-lactones. Therefore, we will prove that these complexes do not interact only with DNA, but they can catalyze reactions in acetone, metanol, water, or, even, blood plasma, as well.

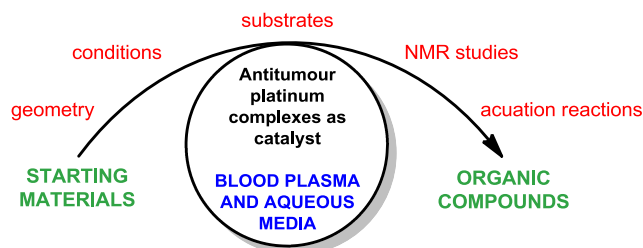


*Chem. Commun.* **2010**, 46, 454-456

#### A.1.2. Mechanistic studies of antitumor platinum complexes as catalysts (Chapter 3)

The anticancer platinum complexes here described react with organic substrates (such as acids, alkenes, alkynes) and catalyze transformations that can occur in

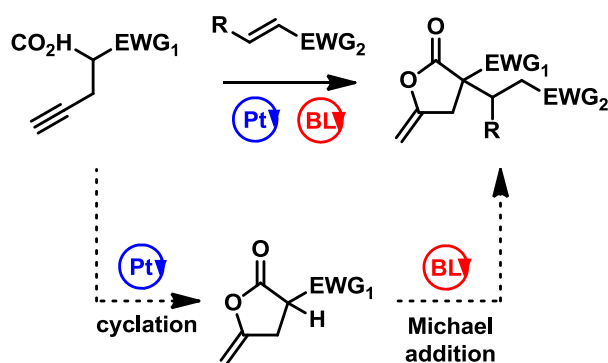
biomolecules which contain unsaturated functions. We have analyzed the role of the platinum complexes in the observed reactions and studied the progress of the detected transformations upon variation of the reaction conditions.



*Dalton Trans.* **2010**, 39, 10601-10607

#### A.1.3. Synthetic application of platinum complexes as catalysts (Chapter 4)

The use of a catalytic amount of platinum complexes (1 mol%) was found to be compatible with different organocatalysts (DABCO or the Jørgensen–Hayashi catalyst) that were used in the functionalization of various activated methylenes. By this method, a series of lactones with C-3 quaternary centers and substitution at C-5 were prepared. In addition, a new tandem reaction which combines iminium-platinum-enamine chemistry was presented.

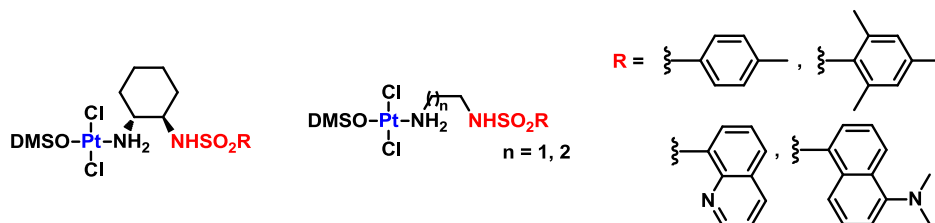


*J. Org. Chem.* **2011**, 76, 7287-7293

#### A.1.4. Synthesis and biological evaluation of novel *trans*-platinum(II) complexes with sulfonamide ligands (Chapter 5)

In this study, we described for the first time the synthesis of *trans*-*N*-sulfonamide platinum complexes. The antiproliferative activity ( $GI_{50}$ ,  $\mu M$ ) of these new compounds in

human solid tumors cells was compared to cisplatin. A structure-activity relationship (SAR) and, also, different biological evaluations and fluorescence assays have been presented.

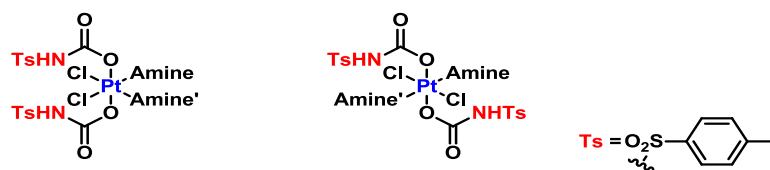


*Med. Chem. Comm.* **2011**, 2, 789-793

*J. Inorg. Biochem.* **2012**, in press

#### *A.1.5. Synthesis and cytotoxicity assays of new platinum(IV) complexes with sulfonylcarbamates moieties (Chapter 6)*

Finally, a method for new platinum(IV) complexes was reported. On the other hand, the cytotoxicity and other chemical and biochemical assays of these new platinum(IV) complexes – in which the sulfonylcarbamate moieties occupy the apical positions – have been evaluated in order to know the effect of the tosyl group within the prodrug.



Unpublished study

As conclusions, in this Ph. D. memory we have studied the catalytic action of platinum complexes, and we found that they interact not only with DNA, they are able to react with fatty acids. Moreover, we have demonstrated that they are excellent catalyst (1 mol%) in aqueous media, and, even, in tandem reactions with organocatalysts as DABCO or Jørgensen-Hayashi catalyst. In addition, we have also obtained a new family of *N*-monosulfonamides platinum(II) and tosylcarbamate platinum(IV) complexes. The sulfonamide platinum(II) complexes display good cytotoxicities, and we have found a hit with better anticancer activity than cisplatin in several cancer cell lines. Unfortunately, the sulfonamide platinum(IV) complexes have exhibited moderated cytotoxicities. We

guess that the presence of tosylcarbamate group reduces the antitumour activity, since their higher polarity.

## A.2. Publications

COMMUNICATION

www.rsc.org/chemcomm | ChemComm

## Anticancer platinum complexes as non-innocent compounds for catalysis in aqueous media†

José Alemán,<sup>a</sup> Virginia del Solar<sup>b</sup> and Carmen Navarro-Ranninger<sup>a,b</sup>

Received (in Cambridge, UK) 28th August 2009, Accepted 21st October 2009

First published as an Advance Article on the web 11th November 2009

DOI: 10.1039/b917758b

An efficient cyclization of alkyne-acids to enol-lactones catalyzed by anticancer platinum(II) and platinum(IV) compounds is described. These compounds are not only DNA-binding complexes; they can also catalyze reactions in solvents such as acetone, methanol, water or blood plasma.

Cisplatin is one of the most successful and traditional anticancer metal compounds<sup>1</sup> which has been used in nearly 50% of all tumour therapies.<sup>2</sup> However, a variety of adverse effects, such as dose-limiting, nephrotoxicity, peripheral neuropathy, tinnitus and hearing loss are known.<sup>3</sup> Thousands of platinum complexes have been tested during the last half-century;<sup>4</sup> recently appearing are the second and third generation platinum complexes, based on the exchange of chlorides by cyclic carboxylates or the exchange of amines by amines, respectively. Nowadays, more attention has focused on the oxidation of Pt(II) to Pt(IV) and their corresponding derivatives.<sup>5</sup> Thus, Pt(II) complexes have been administered intravenously (because of their instability in the gastrointestinal tract), whereas Pt(IV) complexes have shown higher stability, allowing oral administration.<sup>6</sup> It is well-known, that Pt(IV) complexes are reduced inside the cell to Pt(II),<sup>7</sup> binding to DNA, causing the antitumor-effect.

Interestingly, there are only a few studies concerning these classes of anticancer-platinum compounds in other tissues, fluids, or blood and the resulting effects in order to get more information about side-effects or side-reactions that could occur. Therefore, it is necessary to study if these complexes could modify a biological molecule, especially in the blood plasma and/or aqueous media. In this paper, we present our first efforts to show that these types of complexes catalyze organic reactions, such as acid-alkyne cyclization<sup>8–11</sup> in different solvents, also in biological fluids and the modification of unsaturated fatty acids.

Fat soluble compounds which are present in tissues of plants and animals and also as the key structural component of biological membranes and are known with the generic name of lipids. In an exogenous or indigenous source, the unsaturated fatty acids are quite important in human bodies. Thus, the ingestion of omega-3-polyunsaturated fatty acids, e.g. eicosapentaenoic acid (20:5, EPA) (I) (Fig. 1) is associated

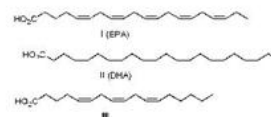


Fig. 1 Different types of unsaturated fatty acids.

with important properties for cardiovascular diseases, because EPA has hypotriglyceridemic, hypocholesterolemic, and anti-inflammatory actions. Another important unsaturated acid is DHA (docosahexaenoic acid (22:6, DHA) (II), Fig. 1) which is associated with the development of the nervous and visual system. In addition, another type of unsaturation has been used, such as inhibitor of leukotriene biosynthesis by acetylenic analogs, such as 5,6-dehydro AA, *cis*-8,11,14-eicosatrien-5-ynoic acid (III).<sup>12</sup>

We envisioned the possibility of the interaction of these types of unsaturated-fatty acids with platinum complexes which have been used as anticancer agents. Thus, we chose a model reaction such as the alkyne-acid cyclization to enol-lactones which have been reported with other metals complexes, usually in organic solvents, mainly palladium<sup>9</sup> and more recently with gold.<sup>10</sup> However, other metals have also been used.<sup>11</sup> To the best of our knowledge, anticancer-platinum complexes have never been employed for this reaction.<sup>11c</sup> Thus, we decided to explore the reaction with different platinum(II) and (IV) complexes (Ia–Ie) synthesized by known methods (see ESI†). We chose complexes with representative amine moieties, and also complexes with *cis* and *trans* geometry (see compounds Ia–Ie, Fig. 2).

We started our investigation with 4-pentynoic acid (2a) in acetone at room temperature using 1 mol% of Ia as catalyst (entry 1, Table 1). When the reaction was stopped after 18 h, we observed two representative signals in <sup>1</sup>H-NMR at 4.66 and 4.23 ppm, corresponding to a *gem*-double-bond (3a),

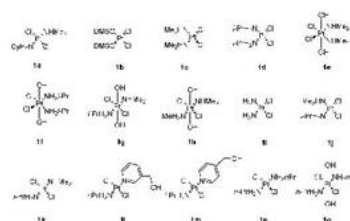


Fig. 2 Platinum(II) and (IV) complexes used in this study.

<sup>a</sup> Departamento de Química Orgánica (C-I), Universidad Autónoma de Madrid, 28049-Madrid, Spain

<sup>b</sup> Departamento de Química Inorgánica (C-VIII) Universidad Autónoma de Madrid, Cantoblanco, 28049-Madrid, Spain. E-mail: jose.aleman@uam.es, carmen.navarro@uam.es; Fax: (+34) 914974833

† Electronic supplementary information (ESI) available: Experimental methods and supplementary information. See DOI: 10.1039/b917758b

**Table 1** Reaction of alkyne **2a** to the enol-lactone **3a** catalyzed by platinum(II) and (IV) complexes **1a–o**<sup>a</sup>

platinum(II) and (IV) complexes 1a–o

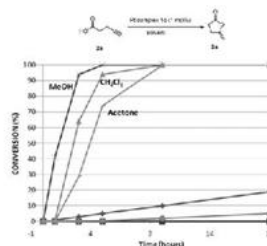
Reaction scheme showing the cyclization of propargyl carboxylic acid **2a** to 5-membered enol lactone **3a** using Pt complex **1a–o** (1 mol%) in acetone at room temperature (rt).

Entry	Platinum complex	Conversion (%) (Yield (%)) <sup>b</sup>	Entry	Platinum complex	Conversion (%) (Yield (%)) <sup>b</sup>
1	<b>1a</b>	<5	9	<b>1i</b>	>99 (37) <sup>b</sup>
2	<b>1b</b>	>99 (nd) <sup>c</sup>	10	<b>1j</b>	>99 (41) <sup>b</sup>
3	<b>1c</b>	>99 (70) <sup>b</sup>	11	<b>1k</b>	9
4	<b>1d</b>	>99 (53) <sup>b</sup>	12	<b>1l</b>	9
5	<b>1e</b>	<5	13	<b>1m</b>	<5
6	<b>1f</b>	<5	14	<b>1n</b>	0
7	<b>1g</b>	42	15	<b>1o</b>	<5
8	<b>1h</b>	8	16	<b>1c</b>	>99 (nd) <sup>d</sup>

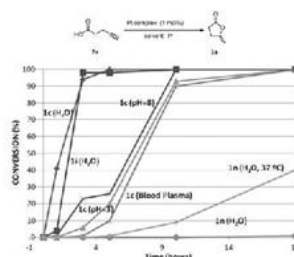
<sup>a</sup> All the reactions were stopped after 18 h. Conversion determined by <sup>1</sup>H-NMR. <sup>b</sup> Isolated yield between brackets. <sup>c</sup> Not determined. <sup>d</sup> This reaction was carried out with 0.1 mol% of catalyst, and stopped after 48 h.

however the conversion was quite poor (<5%). We hypothesized that the use of more labile ligands such as DMSO could improve this reaction. Thus, employing *cis*-complex **1b** we obtained a conversion of >99% (entry 2). Remarkably, full conversion was observed when the complex **1c** was used as catalyst for the cyclization, obtaining a 70% isolated yield after flash chromatography (entry 3).<sup>13</sup> The complex with isopropylamine ligands (**1d**), instead of dimethylamine, was also able to catalyze the reaction with complete conversion (entry 4). Currently, one of the most interesting topics in platinum chemistry is the chemical and medical relationship between Pt(II) and Pt(IV) complexes. These Pt(IV) compounds have been described in bioinorganic chemistry as complexes with lower reactivity and higher chemical stability.<sup>5</sup> However, we thought that the use of the corresponding *cis*-platinum(IV) complexes of *cis*-**1c** and *cis*-**1d** could catalyze the alkyne-acid cyclization. Unexpected, the corresponding Pt(IV) complexes of *cis*-dimethylamine and *cis*-isopropylamine Pt(IV) (**1e** and **1f**), were unable to catalyze this reaction (entries 5 and 6). In contrast, the Pt(IV) complex **1g**, with *trans*-geometry, exhibits catalytic activity with a 42% conversion in 18 h (entry 7). Interestingly, no reaction took place when other amines similar in size and with same *trans*-geometry (Pt(IV)) were used such as **1h** (entry 8). Amazingly, one of the most studied bioinorganic compounds so far in bioinorganic chemistry, the *cis*-platinum(II),<sup>2</sup> gave full conversion (entries 9 and 10) as well as its partner *cis*-platinum **1j**. In addition, as we observed in other cases, *trans*-platinum(II) complexes such as **1k–1m** gave only poor results (entries 11–13). Other *trans*-complexes containing *n*-propyl ligands, such as **1n** and **1o**, gave no conversion at room temperature (entries 14 and 15). We also decided to evaluate the catalyst loading, and we observed that the reaction could be carried out with 0.1 mol% of **1c** with complete conversion (entry 16).

We decided to carry out a study of the reaction rate in different organic solvents, and also in some biological fluids with 1 mol% of catalyst **1c**. As is shown in Fig. 3, no reaction took place in toluene, whereas only 5 and 20% conversion after 18 h were observed in DMSO and DMF, respectively.



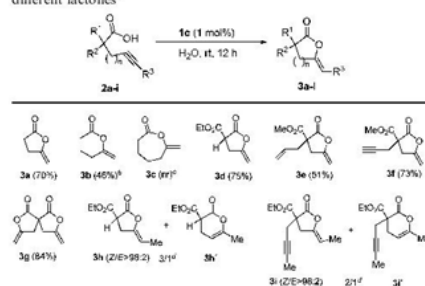
**Fig. 3** Reaction rate with **1c** in different organic solvents.



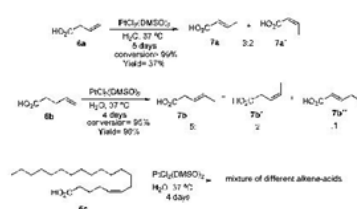
**Fig. 4** Reaction in aqueous media at room temperature.

The reaction took place in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  and acetone with almost full conversion in 10 h. This reaction is usually performed in organic solvents with other metals.<sup>9–11</sup> However, these anticancer agents have been used in aqueous media and we carried out a study in different physiological conditions (Fig. 4). In order to establish the influence of these factors, we carried out the cyclization reaction in  $\text{H}_2\text{O}$ , obtaining almost full conversion in 3 h with *cis*-platin (**1i**) and its dimethyl derivative **1c**. The pH has a notable influence, decreasing the conversion at 3 h to 6% and 23% at pH = 3 (stomach) and pH = 8 (gut), respectively, and full conversion was observed for both cases at 10 h. The ability of proteins as scavengers of platinum complexes is known, and therefore we assayed the reaction in blood plasma to test the influence of the contained blood proteins. We observed a decreased reaction rate, probably due to the interaction of the proteins with the platinum complex **1c**, diminishing the concentration of the catalyst in the reaction media. Finally, we checked the *trans*-Pt(II)-complex **1n** which did not react at room temperature (see entry 14, Table 1) as we also observed for the rest of the platinum *trans* complexes (see Table 1). However, at 37 °C (physiological human temperature) we observed a conversion of 40% for this *trans* platinum complex, indicating the importance of the temperature in these types of transformations.

As a final part of this work, cyclizations of different alkyne acids **2a–2j** are presented (Table 2). When we increased the size of the ring cyclization to a six membered ring, we observed lower reactivity under the optimized conditions (30 h), obtaining lower yields. Thus, the cyclization of a seven membered ring

**Table 2** Acid-alkyne cyclization reaction with catalyst **1c** to afford different lactones<sup>a</sup>

<sup>a</sup> All reactions were performed on a 0.2 mmol scale in 0.2 mL of solvent and stopped after 12 h. <sup>b</sup> This reaction was carried out with catalyst **1b** in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  and the yield is based on recovered material. <sup>c</sup> No reaction. <sup>d</sup> This reaction was carried out with catalyst **1b**.

**Scheme 1** Transformation of some alkene-acids **6a-c**.

cannot be carried out, obtaining only starting material after 24 h, at room temperature and also at higher temperatures (37 °C). Other substitutions in the  $\alpha$  position of the acid moiety was tolerated, such as esters (**2d**), allyl groups (**2e**) and propargyl groups (**2f**), obtaining in all cases the expected products (**3d-f**) in moderate to good yields. Interestingly, a tandem reaction could be performed using the double acid-double alkyne **2g**, thus leading to the double spiro-lactone compound **3g**. In the final entries of Table 2, we showed the influence of a substitution at the triple bond. When a methyl group was present in the alkyne (**2h**), a mixture of five and six member rings in a 3:1 ratio (**3h/3h'**) was obtained. We confirmed this fact also for the triple bond **2i**, obtaining a mixture of **3i/3i'**. From a mechanistic point of view we carried out the reaction with  $\text{D}_2\text{O}$ , observing a 95% incorporation of deuterium into the double bond and longer reaction times, from 4 h ( $\text{H}_2\text{O}$ ) to 10 h ( $\text{D}_2\text{O}$ ) which was followed by NMR. This slightly kinetic primary isotopic effect indicates that the rate limiting step is related to the cleavage of the platinum complex from the recently formed double bond *via* deuteration (see ESI†).

Acids containing double bonds were also tested with these platinum complexes. Thus, the but-3-enoic acid **6a** at 37 °C was transformed into the conjugated **7a:7a'** in a 3:2 Z/E

mixture of isomers (eqn (1), Scheme 1). A  $\gamma$ -double bond relative to the acid group was also reacted, obtaining mainly a 5:2:1 mixture of the internal double bond **7b:7b'** and also the conjugated acid **7b''** as the minor product (eqn (2)). With these results in mind we decided to carry out the experiment with a longer alkyl chain as (Z)-icos-5-enoic acid **6c** (eqn (3)). After four days at the same reaction conditions we detected a mixture of different alkene-acids (see ESI†). Therefore, the nature and the properties of these unsaturated-acids could be changed with these platinum complexes which transform the original fatty acid to different ones.<sup>14</sup>

In conclusion, we have shown an efficient cyclization of alkyne-acids to enol-lactones catalyzed by anticancer Pt(II) and Pt(IV) compounds. This is a significant unprecedented fact which proves that these compounds are not only DNA-binding complexes; they can also modify biological molecules such as unsaturated fatty acids in aqueous media.

This work was made possible by the Ministerio de Educación y Ciencia (grant SAF2006-03296 and SAF2009-09431) and is gratefully acknowledged. Ministerio de Ciencia e Innovación is thanked for a Juan de la Cierva contract (J. A.) and a pre-doctoral fellowship (V. S.).

## Notes and references

- For recent reviews in the use of metal compounds in medicinal chemistry, see: (a) M. A. Jakupiec, M. Galanski, V. B. Arion, C. G. Hartinger and B. K. Keppler, *Dalton Trans.*, 2008, 183; (b) T. W. Hambley, *Dalton Trans.*, 2007, 4929; (c) R. W.-Y. Sun, D.-L. Ma, E. L.-M. Wong and C. M. Che, *Dalton Trans.*, 2007, 4884; (d) S. P. Fricker, *Dalton Trans.*, 2007, 4903.
- B. Rosenberg, *Interdiscip. Sci. Rev.*, 1978, 3, 134.
- P. J. O'Dwyer, J. P. Stevenson and S. W. Johnson, *Drugs*, 2000, 59, 19.
- For recent reviews in platinum anticancer complexes, see: (a) M. Bruyninx and P. J. Sadler, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2008, 12, 197; (b) L. Kelland, *Expert Opin. Invest. Drugs*, 2007, 16, 1009.
- For a review in Pt(IV) complexes, see: M. D. Hall, H. R. Mellor, R. Callaghan and T. W. Hambley, *J. Med. Chem.*, 2007, 50, 3403.
- M. A. Jakupiec, M. Galanski and B. K. Keppler, *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, 2003, 146, 1.
- (a) M. D. Hall and T. W. Hambley, *Coord. Chem. Rev.*, 2002, 232, 49; (b) M. D. Hall, R. C. Dolman and T. W. Hambley, *Met. Ions Biol. Syst.*, 2004, 42, 297; (c) For a review in the Photoactivatable Platinum Complexes, see: P. J. Bednarski, F. S. Mackay and P. J. Sadler, *Anti-Cancer Agents Med. Chem.*, 2007, 7, 75.
- For a review in gold and platinum catalysis, see e.g.: A. Fürstner and P. W. Davies, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2007, 46, 3410.
- For palladium complexes, e.g. N. Yanagihara, C. Lambert, K. Iritani, K. Uemoto and H. Nozaki, *J. Am. Chem. Soc.*, 1986, 108, 2753.
- For gold, see e.g. E. Genin, P. Y. Toullec, S. Antonietti, C. Brancour, J.-P. Genêt and V. Michelet, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, 128, 3112.
- For ruthenium complexes, see: (a) T. Mitsudo, Y. Hori, Y. Yamakawa and Y. Watanabe, *J. Org. Chem.*, 1987, 52, 2230; (b) For copper, see: T. L. Mindt and R. Schibli, *J. Org. Chem.*, 2007, 72, 10247; (c) The use of  $\text{PtCl}_2$  for this reaction has been reported for one example in an organic solvent (DCE) in the screening table. See: K. Komeyama, K. Takahashi and K. Takaki, *Chem. Lett.*, 2008, 37, 602.
- D. E. Sok, C. Q. Han, J.-K. Pai and C. J. Sih, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1982, 107, 101.
- Although the conversion was >99%, the isolated yield is lower due to the low boiling point of the product **3a**.
- We are currently studying the mechanism of the isomerization with other complexes and other double bonds. Also, further studies oriented towards reactions with other different organic molecules, are in progress and will be reported at a later date.

## New reactions of anticancer-platinum complexes and their intriguing behaviour under various experimental conditions

José Alemán,<sup>a</sup> Virginia del Solar,<sup>b</sup> Leticia Cubo,<sup>b</sup> Adoración G. Quiroga<sup>a,b</sup> and Carmen Navarro Ranninger<sup>a,b</sup>

Received 19th May 2010, Accepted 13th August 2010

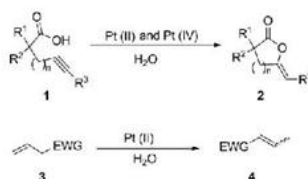
DOI: 10.1039/c0dt00506a

The anticancer platinum complexes here described react with organic substrates (such as acids, alkenes, alkynes) and catalyze transformations that can occur in biomolecules which contain unsaturated functions. We have analyzed the role of the platinum complexes in the observed reactions and studied the progress of the detected transformations upon variation of the reaction conditions.

### Introduction

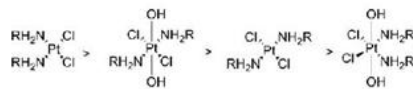
Cisplatin is still the most important metalloidrug in the clinic, in spite of its severe side effects and the tumor resistance observed after prolonged treatment. Thus, thousands of platinum complexes have been tested during the last half-century, but further improvements slowed for many years.<sup>1</sup> However there has been an important impulse regarding metalloidrug design in recent years, not only affording novel compounds but also, and more importantly, moving further towards the understanding of their mechanism of action. *Trans*-platinum complexes provide one of the most remarkable examples, especially because in the beginning the *trans* geometry was dismissed as lacking potential. Specifically, Barnett Rosenberg observed and reported a lack of activity for such complexes.<sup>2</sup> However, since the earliest examples of active *trans*-platinum complexes by Farrell and co-workers,<sup>3</sup> several additional classes of biologically active *trans*-platinum(II) complexes were developed as “rule-breaker” platinum antitumoral complexes.<sup>4,5</sup> Nowadays the anticancer relevance of *trans*-platinum complexes has been demonstrated by a number of publications and reviews published in the last twenty years.<sup>6,7</sup> In particular, the studies of the interaction of these complexes with other representative biomolecules besides DNA has become a relevant field of research.<sup>8,9</sup>

In this context, and considering the wide variety of platinum complexes, we were intrigued by the ability of these species to modify other biomolecules in the human body. We have recently studied the catalytic activity of these platinum compounds<sup>10</sup> in the alkyne-acid cyclization reaction and also in the double bond isomerization reaction (Scheme 1). In general, these transformations are known to proceed with different catalysts. However, as far as we know, the catalytic activity of Pt(II) anticancer complexes was never studied. We found that these reactions proceeded with a low catalyst loading (up to 0.1 mol%) and a high conversion in water relative to organic solvents (Scheme 1).<sup>10</sup> In this previous work, we selected a group of fifteen platinum complexes with different features regarding geometry, ligands and oxidation states, all of



**Scheme 1** Recent alkyne-acid cyclization and alkene-isomerization studied by our group (EWG: electron withdrawing group).

which have showed cytotoxicity against tumor cells. From this group of tested complexes, only some of them were catalytically active. The alkyne-acid cyclization of substrates such as (Z)-icos-5-enoic acid (present on the cell membrane), was catalyzed by these active platinum species. Additionally, it was also observed that Pt(II) complexes with *cis* geometry were more active than the corresponding *trans*-Pt(II), whereas Pt(IV) with *cis* geometry were less active than the corresponding *trans* complexes (Fig. 1).



**Fig. 1** Necessary features for the catalytic transformation.

In view of these results, some questions immediately arose concerning a possible connection between this catalytic activity and the intracellular activation of the platinum complexes by aquation reactions,<sup>11</sup> as well as the influence of different factors such as the presence of biological ions in the media which could potentially modify the activity of this kind of biologically active complexes.<sup>8</sup> In this work, we will present our attempts to clarify these questions as well as some aspects of the reaction mechanism.

### Results and discussion

The variation of several mechanistic aspects that may have an important influence on intra- and/or extracellular reactions was studied in the model reaction. First we looked at the influence of the following variations: the concentration of platinum catalyst, the effect of stirring, the reaction time and the importance of the

<sup>a</sup>Departamento de Química Orgánica (M-I), Universidad Autónoma de Madrid, Cantoblanco, 28049, Madrid, Spain

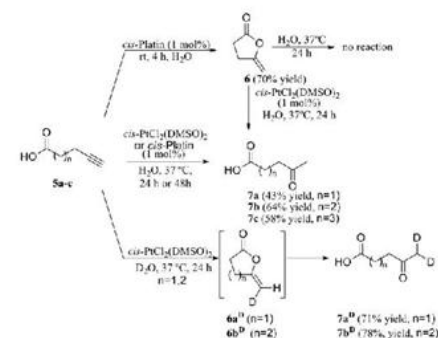
<sup>b</sup>Departamento de Química Inorgánica (M-VIII) Universidad Autónoma de Madrid, Cantoblanco, 28049, Madrid, Spain. E-mail: jose.aleman@uam.es, carmen.navarro@uam.es, adoracion.gomez@uam.es; Fax: (+) (0034) 914974833



solvent (water) in the reaction. After analyzing these results and finding that the presence of water was essential, we looked at the mechanism of the platinum complex as a catalyst using 2D [ $^1\text{H}$   $^{15}\text{N}$ ] HSQC NMR. Finally we tried to connect the results obtained from the study of these mechanistic aspects of the catalytic platinum complexes with their activity as antitumor drugs.<sup>11</sup> We also studied the reaction of these complexes with organic substrates that are significant model compounds in human metabolism.

#### Influence of Reaction Time on the Reactivity of Pt Complexes

We initially observed that cisplatin was able to transform all the starting material from **5a** to **6<sup>a</sup>** (equation 1, Scheme 2), after 4 h at room temperature. However, when the reaction was maintained for 24 h, we observed traces of a new product. Thus, we decided to force the conditions with *cis*-PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>, one of the most active platinum(II) complexes used as a catalyst in this work, at 37 °C, identifying the new product as 4-oxopentenoic acid **7a** (equation 2). In order to discover if the catalyst was intervening in the process, compound **6** was isolated and placed under the same conditions without the platinum complex, and no reaction was detected after 24 h (equation 1, top right, Scheme 2). However, when compound **6** was placed in the presence of the catalyst, full conversion to product **7a** was observed (right-down-equation 1, Scheme 2). We also checked the influence of the alkyl chain length of compounds **5b–c** ( $n = 2, 3$ ), observing full conversion to oxoacids **7b–c** (equation 2).

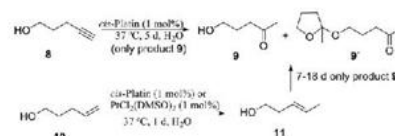


**Scheme 2** Influence of reaction time and conditions on the obtained products.

Cisplatin was able to catalyze the reaction, and *cis*-PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub> required double the reaction time (48 versus 24 h). The reaction was also performed with D<sub>2</sub>O (equation 3, Scheme 2), obtaining the open-chain compound **7a<sup>D</sup>–b<sup>D</sup>** with double incorporation of deuterium at the terminal methyl group. This process was conducted through the intermediate **6a<sup>D</sup>** which was demonstrated by the study and isolation of this intermediate under smoother reaction conditions [rt, D<sub>2</sub>O and *cis*-PtCl<sub>2</sub>(NHMe<sub>2</sub>)<sub>2</sub>], the second deuterium being incorporated when the ring of **6a<sup>D</sup>** was opened, leading to compound **7a<sup>D</sup>**.

Following up on these results with acid substrates, we turned our attention to the study of the triple and the double bond

reactivity with alcohol substrates (Scheme 3). Thus, the reaction of pent-4-yn-1-ol and cisplatin after 5 days at 37 °C led to the oxoalcohol ketone **9** (equation 1, Scheme 3). Also we could observe the acetal **9'** as a byproduct (22%), which is in accordance with other similar procedures described in the literature.<sup>12,13</sup> This byproduct **9'** can finally be transformed into **9** by longer reaction times (7 days). However, it should be highlighted that such reactivity, compared to the alkyne-cyclization, was much slower. In fact **9** was only isolated with full conversion after five days. Regarding the alkene-transformation, the alcohol **10** was transformed to the more thermodynamically stable compound **11** after one day with *cis*-PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>, with 50% conversion (equation 2, Scheme 3). Slightly lower conversion was found with cisplatin, with which products **9**, **9'** and **11** were detected in the crude mixture. Longer reaction times (seven days with *cis*-PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub> or eighteen days with cisplatin) provoked the transformation of the double bond **11**, finally affording **9** in full conversion.



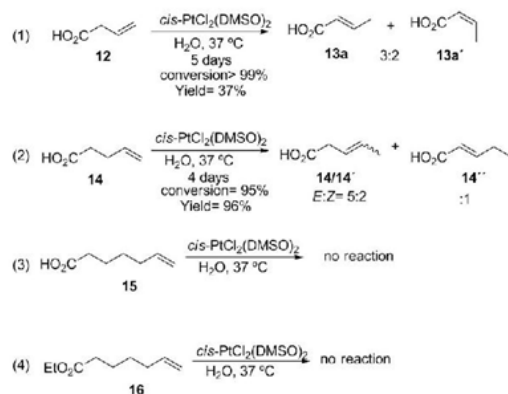
**Scheme 3** Influence of reaction time on the obtained products (d: days).

The isomerisation of compound **12** to **14** was also observed with alkenes bearing an acid moiety.<sup>16</sup> Thus alkenes **12** and **14** were transformed into the corresponding isomers **13a/13a'** and **14/14'/14''**, obtaining full conversion for both reactions (equations 1, 2, Scheme 4). Using a different catalyst such as cisplatin, the same reactivity was observed with longer reaction times. However this transformation required a key feature in the structure of the organic substrate: the presence of an acid moiety linked to the double bond by an alkyl chain of no more than five carbons. For instance, no reaction was observed with the longer acid **15**, (equation 3) or with the ester **16** (equation 4 Scheme 4).

In summary, three main reactivity pathways were detected and they are described as follows; the alkyne-cyclization was the preferred transformation and also occurred in shorter times (4–12 h), however longer reaction times produced open-chain products (transforming the alkyne moiety into a ketone) (Scheme 2). The alkynols and alkenols were also transformed into the corresponding ketones after longer time periods (days, Scheme 3). Finally, we also found isomerization of double bonds to form conjugated or more stable double bonds (days, Scheme 4).

#### Effect of Concentration and Stirring

During some specific NMR experiments (see mechanistic aspects and NMR studies sections) we observed some important variations in the conversion time of the reactions comparing the catalyst studies with the *in vitro* studies. In our previous work, we observed that the standard reaction (with **5a**, top equation, Scheme 2) with *cis*-PtCl<sub>2</sub>(NHMe<sub>2</sub>)<sub>2</sub> led to the final cyclized product in four hours. However, when we tried to reproduce the same reaction in an NMR tube we found longer reaction times (up to 14 h) were necessary.



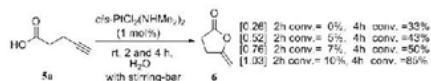
**Scheme 4** Reactions of some alkene-acids and esters

In order to clarify these differences, we started studying the effects of stirring and concentration on the sample.

After several experiments performed in standard flasks and directly in NMR tubes, we detected that the conversion time of the model reaction was not equal in both systems. The conversion in a standard flask took place in shorter reaction times (1 to 4 h) than the conversion in the NMR tube (from 8 to 12 h). As the only difference in both systems was that the NMR tube experiment was performed without stirring, we studied the model reaction in a standard flask without stirring and on this occasion after four hours no conversion was observed.

It is clear, then, that variations of the reaction conditions (e.g. the stirring) can have an important influence on the final value of the conversion. The stirring effect may have special relevance in biological systems, where more dynamic conditions are found in the circulatory system than for example in the inner cell.

Concentration is also an important factor for the reaction times. In order to evaluate this effect the model reaction (Scheme 5) was studied using four different concentrations of the substrate **5a** ( $[M] = 0.26, 0.52, 0.76, 1.03$ ) and *cis*-PtCl<sub>2</sub>(NHME<sub>2</sub>)<sub>2</sub> ( $[M] = 0.0026, 0.0052, 0.0076, 0.0103$ ) and the check-times in these assays were two and four hours for each run. When a higher concentration was used, the rate of conversion at two hours was higher (e.g. conversion = 10% at  $[M] = 1.03$  and conversion = 0% at  $[M] = 0.26$ ). The rate of conversion was also substantially increased at 4 h, obtaining 85% conversion at  $[M] = 1.03$ , and 33% at  $[M] = 0.26$ . This later fact may indicate that the platinum complex is acting as a pre-catalyst that requires some time for activation (see below, influence of water).



**Scheme 5** Influence of the concentration on the conversion.

**Table 1** Influence of different electrolytes on the conversion reaction

	No buffer	NaF	NaCl	NaBr	CsF	CsCl	KClO <sub>4</sub>
Conversion (%)	49	48	18	51	62	30	47

### Presence of Electrolytes and Biological Ions

One of the most abundant anions in physiological solutions is chloride;<sup>14</sup> the extracellular and intracellular concentrations of which are typically 110 mM and 5–15 mM, respectively. The alteration of this anion concentration across biological membranes can induce physiological effects and modulate the action of certain metalloproteins like cisplatin which is supposed to cross membranes by passive diffusion and/or with certain metalloproteins as CTR1.<sup>15</sup> To determine the effectiveness of the conversion in the presence of chloride anions, a test was run with *cis*-PtCl<sub>2</sub>(NHMe<sub>2</sub>)<sub>2</sub> and NaCl, which produced a lower final conversion rate than that in the presence of water (Table 1). The presence of fluoride or bromide did not produce any effect in the conversion values.

The electrostatic stabilization of the carboxylic acid against the conversion could have been caused by a possible interaction with the cation. So, the substitution of  $\text{Na}^+$  by a  $\text{Cs}^+$  was studied and turned out to have a slight impact on the nature of the reaction when comparing  $\text{NaF}$  with  $\text{CsF}$ ; and  $\text{NaCl}$  with  $\text{CsCl}$  (see values Table 1). Better results were obtained using the caesium ion salts than the sodium ions, which might indicate that the negative charge of the carboxylic acid is stabilized more by the sodium ion (smaller size) than by the caesium ion. The electrolyte used ( $\text{ClO}_4^-$ ) did not produce changes in the reactivity values, being the best electrolyte to perform these experiments.

### Influence of Water

The very striking feature of these platinum catalysts was the good conversion values in aqueous solution. This same conversion has been reported to take place with some other metals but using organic solvents (dichloromethane and acetone) and also longer reaction times.<sup>16–18</sup> Very recently we reported how these *trans*-platinum anticancer-complexes were activated by aquation reactions.<sup>15,19</sup> The role of water in the mechanism of this conversion is important and we decided to study the mechanism of the model reaction in detail using the 2D [<sup>1</sup>H <sup>15</sup>N] HSQC NMR technique. This tool allows simultaneous detection of all the species without isolation of the reaction intermediates. But in order to carry this out, a previous knowledge of the intermediates was needed as the range of this technique is very broad and appreciable changes on NMR values were observed depending on the ligands around the platinum atom.<sup>20</sup>

The reaction was performed in dry chloroform and chloroform with 10% and 1% water. The results showed 100% conversion only in the experiment with water and no conversion at all in the reaction performed with the dry solvent. This result is in agreement with the activation *via* aquation reaction, indicating that water is essential for the activation of these platinum complexes.

### Mechanistic Aspects and NMR Studies

Knowing that the presence of water is essential, the mechanism of the platinum pre-catalyst was studied using 2D [<sup>1</sup>H <sup>15</sup>N] HSQC NMR. This technique has been proven to be an excellent tool for studying aquation reactions, with high sensitivity at the low physiological concentrations used for antitumor platinum complexes (containing amine donor ligands).<sup>11</sup> The mechanism of action for the majority of this kind of antitumor platinum complexes, including cisplatin,<sup>21</sup> has been accepted to be based on the aquation reaction of the chlorido ligands, with the aqua species being responsible for the DNA damage. The 2D NMR tool will be of special interest in the study of the catalytic mechanism as it allows simultaneous detection of all the species (*via infra*),

dichlorido, mono, bis-aqua and/or some other potential species.<sup>22</sup> Moreover the aquation of *trans*-[PtCl<sub>2</sub>(<sup>15</sup>N-amine)(<sup>15</sup>N-amine)] complexes, here used as pre-catalysts, was already described<sup>11</sup> using 2D [<sup>1</sup>H <sup>15</sup>N] HSQC NMR. The obtained kinetic data and species characterization have been essential information used to perform the catalytic studies presented here. These results were obtained with the *cis*<sup>19</sup> and *trans*<sup>11</sup> platinum complexes in 100 mM NaClO<sub>4</sub>, and at pH 4.2–4.8, which is a very important variable in the chosen model of catalytic conversion because deprotonation of the formed aqua species will afford non-active hydroxo complexes.

Using the conditions previously reported for the model catalytic reaction, the reaction of 4-pentynoic acid with complex *cis*-PtCl<sub>2</sub>(NHMe<sub>2</sub>)<sub>2</sub> has been monitored by <sup>1</sup>H NMR at pH: 2.8–3 (Fig. 2). This pH condition is caused by the alkene-acid substrate used in the catalytic reaction.

As shown in Fig. 2, monitoring the reaction using <sup>1</sup>H NMR, the conversion of the acid substrate started to become clear at five hours but was only fully detected after 20 h of reaction time. This fact was not surprising considering the results included in the stirring conditions studies regarding the optimization of our model reaction (see section below). Thus, the detected reactivity delay in the NMR tube allows a wider time range for finding the possible intermediates in the next two dimensional experiment.

The evolution of the 2D [<sup>1</sup>H <sup>15</sup>N] HSQC NMR (ii and iii in Fig. 3) spectrum was studied under the same conditions. Only the dichlorido starting material (i in Fig. 3) was observed in the freshly prepared sample. Afterwards the mono-aqua species arose after one hour (data not shown); this speciation being in agreement with the data published before<sup>19</sup> (Fig. 3: data showed from after five hours when the conversion was first detected). The mono-aqua species remained throughout the reaction and more importantly, no bis-aqua species was found in the spectra. In order to corroborate the precise assignment of the mono-aqua crosspeaks, the titration of the sample was performed and the mono-aqua complex afforded the expected hydroxo species, while no hydroxo-dinuclear or any other species were observed. These data seemed to indicate that the presence of the mono-aqua species was essential in the alkene-cyclization.

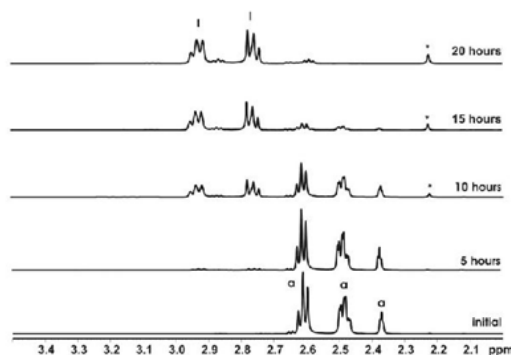


Fig. 2 Progress of the reaction of complex *cis*-PtCl<sub>2</sub>(NHMe<sub>2</sub>)<sub>2</sub> with 4-pentynoic acid, monitored by <sup>1</sup>H NMR (a: acid, l: lactone).

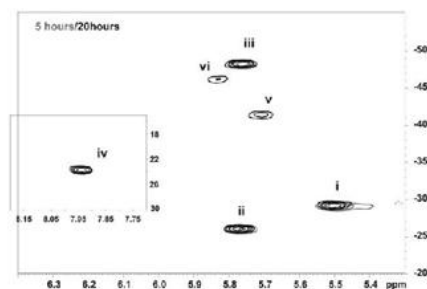


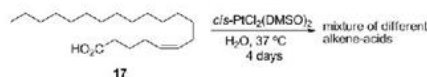
Fig. 3 2D  $^1\text{H}$   $^{15}\text{N}$  HSQC NMR spectra after 5 h reaction and 20 h reaction of complex  $\text{cis-PtCl}_2(\text{NHMe})_2$  and 4-pentynoic acid. Detail from the positive  $\delta(^{15}\text{N})$  area is also included.

But after 20 h, two new species were detected at  $\delta(^{15}\text{N}/^1\text{H})$ :  $-42/5.75$  ppm for the species number v and at  $\delta(^{15}\text{N}/^1\text{H})$ :  $-46/5.85$  ppm for species number vi, though these new species were 5% and 4% of the total respectively, compared to 45% for the mono-aqua species.<sup>22</sup> The area of these crosspeaks (v and vi) decreased with time, being 2% and 3% respectively at 72 h. Simultaneously to these novel species and outside the area typically described for aqua/hydroxo platinum complexes, another crosspeak was detected at  $24/7.9$  ppm (species iv in the extra area displayed in Fig. 3) as one of the major products (30% versus 45% of the aqua species) which corresponds to free dimethylamine.<sup>23</sup>

With all the optimization matters resolved, the next step was to look at the possible action of these platinum complexes with important substrates in biological media.

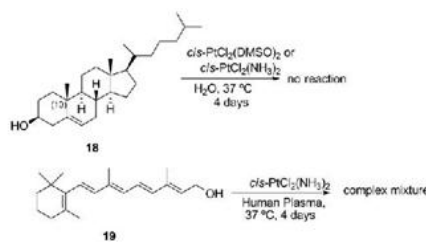
#### Modifications of Biomolecules

One of the most important features of these platinum complexes, besides the antitumor activity, is the ability to modify different molecules, including bioactive ones. We started our investigation studying the isomerization of the double bonds present in some fatty acids, such as oleic acid (Scheme 6). When the acid **17** was placed in aqueous conditions at human body temperature, unidentified modified alkenes were formed. The transformation of compound **17** might indicate that platinum complexes could modify some other fatty acids which are present in tissues of plants and animals and are also key structural components of biological membranes.



Scheme 6 Transformation of alkene-acid **17**.

Considering that the key structural feature for catalytic activity shown by the platinum complexes is the presence of a chelating group (oxygen, acid) and unsaturation next to the chelating group (less than 6–7 carbons), we started to look other potential molecules with relevant biomolecular properties and these key features. Cholesterol and retinol (vitamin A) (Scheme 7) were



Scheme 7 Transformation of some selected biomolecules.

identified as meeting the requirements for the possibility of being modified with platinum complexes due to their double bonds.

The cell membrane component cholesterol was tested in the presence of complexes with *cis* geometry such as cisplatin and the DMSO derivative. No changes were observed after four days in the starting material (**18**) at 37 °C. This is probably because of the inadequate orientation of the oxygen moiety and the methyl group (position 10) that might be blocking the coordination of the platinum complex to the double bond.

Finally, retinol (**19**) was tested at pH = 6.8 for four days at 37 °C in water with cisplatin (1 mol%) and monitored by  $^1\text{H}$  NMR. The transformation of retinol was detected in the first 24 h and no retinol was observed after 4 days, obtaining full decomposition. This fact indicates a high incompatibility of retinol with these platinum complexes. The results with retinol, which is usually found in plasma and enters the cell by diffusion, have important implications, and could indicate that animals or patients under treatment with platinum complexes could suffer modifications of biomolecules by different mechanisms. *In vivo* studies regarding modifications of these biomolecules are in progress and will be reported at a later date.

#### Conclusions

We have demonstrated that platinum complexes catalyzed transformation of some unsaturated organic compounds *via* their aqua species. We have studied the progress of the reaction varying the reaction conditions. In addition, we have shown that anticancer platinum complexes react with organic substrates (such as acids, alkenes, alkynes) and with some selected important biomolecules which contain unsaturated functions.

#### Experimental

##### Materials and methods

NMR spectra were acquired on a Bruker 300 spectrometer, running at 300 and 75 MHz for  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$ , respectively. Chemical shifts ( $\delta$ ) are reported in ppm relative to residual solvent signals ( $\text{CHCl}_3$ , 7.26 ppm for  $^1\text{H}$  NMR,  $\text{CDCl}_3$ , 77.0 ppm for  $^{13}\text{C}$  NMR).  $^{13}\text{C}$  NMR spectra were acquired in a broadband decoupled mode. Analytical thin layer chromatography (TLC) was performed using pre-coated aluminium-backed plates (Merck Kieselgel 60 F254) and visualized by ultraviolet irradiation or  $\text{KMnO}_4$  dip. Purification of reaction products was carried out by

flash chromatography (FC) using silica 60 A C<sub>18</sub> 35–75  $\mu$ m (SDS VOTRE PARTENAIRE CHIMIE). The following compounds were synthesized according to published procedures: *cis*-Pt(II) complexes *cis*-Pt(DMSO)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>,<sup>24,25</sup> cisplatin (Sigma-Aldrich) and *cis*-dichlorodimethylamine platinum(II).<sup>19</sup> Blood samples were obtained from patients that agreed to have their blood used for scientific purposes through signed consent. Blood was drawn from an arm vein into Vacutainer tubes containing EDTA (final concentration, 1.5 mg mL<sup>-1</sup>). Samples were centrifuged immediately (15 min, 3000 rpm, 4 °C). Plasma was collected by aspiration, and samples were immediately immersed in crushed ice. Plasma samples (1.5 mL aliquots) were frozen.

#### General Procedure for the alkyne-acid cyclization in aqueous media

In an ordinary vial the corresponding platinum complex (1 mol%, 0.002 mmol) was added to a stirred solution of the corresponding alkyne acid (0.2 mmol) in 0.2 mL of water. After complete consumption of the alkyne acid (usually 6–10 h, monitored by <sup>1</sup>H NMR spectroscopy), the reaction mixture was diluted with 5 mL of 10% HCl and extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2  $\times$  5 mL). The organic phase was dried with anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and finally the product was purified following the procedure indicated in each case.

**Dihydro-5-methylenefuran-2(3H)-one (6).** The product was directly obtained following the standard procedure using the catalyst indicated in Scheme 2 as yellow oil (14 mg, 70% yield) after FC (5:1 hexane–EtOAc). <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  4.68 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 4.26 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 2.85–2.79 (m, 2H), 2.63–2.57 (m, 2H). <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  174.8, 155.6, 88.4, 27.8, 24.9 MS (TOF ES<sup>+</sup>): [M]<sup>+</sup> calcd for C<sub>5</sub>H<sub>6</sub>O; 98.0368; found 98.0373.

#### General Procedure for the oxoacid compounds in aqueous media

In an ordinary vial the corresponding platinum complex (1 mol%, 0.002 mmol) was added to a stirred solution of the corresponding alkyne acid (0.2 mmol) in 0.2 mL of water. After complete consumption of the alkyne acid (monitored by <sup>1</sup>H NMR spectroscopy), the reaction mixture was diluted with 5 mL of 10% HCl and extracted with AcOEt (2  $\times$  5 mL). The organic phase was dried with anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

**4-Oxopentanoic acid (7a).** The product was directly obtained with full conversion following the standard procedure after 12 h using the catalyst indicated in Scheme 2 as yellow oil (10 mg, 43% yield) without further purification. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  9.37 (bs, 1H), 2.68 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H), 2.55 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H), 2.12 (s, 3H), 2.63–2.57 (m, 2H). <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  205.7 (C), 177.2 (C), 36.8 (CH<sub>2</sub>), 28.7 (CH<sub>3</sub>), 27.0 (CH<sub>2</sub>). MS-ESI<sup>+</sup>: [M+Na]<sup>+</sup> calcd for C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>NaO<sub>3</sub>; 139.0365; found 139.0368.

**5-Oxohexanoic acid (7b).** The product was directly obtained with full conversion following the standard procedure after 30 h using the catalyst indicated in Scheme 2 as yellow oil (17 mg, 64% yield) without further purification. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  10.36 (bs, 1H), 2.47 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.32 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.08 (s, 3H), 1.83 (qt, *J* = 7.1 Hz, 2H). <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  208.3 (C), 179.0 (C), 42.3 (CH<sub>2</sub>), 32.9 (CH<sub>2</sub>), 29.9 (CH<sub>3</sub>), 18.5

(CH<sub>2</sub>). MS-ESI<sup>+</sup>: [M+Na]<sup>+</sup> calcd for C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>NaO<sub>3</sub>; 153.0522; found 153.0516.

**6-Oxoheptanoic acid (7c).** The product was directly obtained with 72% conversion following the standard procedure after 4 days using the catalyst indicated in Scheme 2 as yellow oil (17 mg, 58% yield) after FC (1:1 hexane–EtOAc). <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.66 (bs, 1H), 2.40 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 2.30 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 2.08 (s, 3H), 1.58–1.55 (m, 4H). <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  208.9 (C), 179.4 (C), 43.2 (CH<sub>2</sub>), 33.7 (CH<sub>2</sub>), 29.8 (CH<sub>3</sub>), 24.0 (CH<sub>2</sub>), 23.0 (CH<sub>2</sub>). MS-ESI<sup>+</sup>: [M+Na]<sup>+</sup> calcd for C<sub>7</sub>H<sub>13</sub>NaO<sub>3</sub>; 167.0678; found 167.0686.

#### General Procedure for the oxoacid deuterated compounds in aqueous media

In an ordinary vial the catalyst *cis*-Pt(DMSO)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> was added to a stirred solution of the corresponding alkyne acid (0.2 mmol) in 0.2 mL of D<sub>2</sub>O. After complete consumption of the alkyne acid (monitored by <sup>1</sup>H NMR spectroscopy), the reaction mixture was diluted with 5 mL of HCl 10% and extracted with AcOEt (2  $\times$  5 mL). The organic phase was dried with anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

**5,5-Dideuterium-4-oxopentanoic acid (7a<sup>D</sup>).** The product was directly obtained with full conversion following the standard procedure using the catalyst indicated in Scheme 2 as yellow oil (16 mg, 71% yield) without further purification. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  9.01 (bs, 1H), 2.68 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H), 2.55 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.12–2.08 (m, 1H). <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  208.1 (C), 177.6 (C), 37.6 (CH<sub>2</sub>), 29.1 (qt, *J* = 19.2 MHz, CH), 27.7 (CH<sub>3</sub>). MS-ESI<sup>+</sup>: [M+Na]<sup>+</sup> calcd for C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>D<sub>2</sub>O<sub>3</sub>; 141.0491; found 141.0487.

**6,6-Dideuterium-5-oxohexanoic acid (7b<sup>D</sup>).** The product was directly obtained with full conversion following the standard procedure using the catalyst indicated in Scheme 2 as yellow oil (20 mg, 78% yield) without further purification. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.95 (bs, 1H), 2.52 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.36 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.14–2.09 (m, 1H), 1.87 (qt, *J* = 7.1 Hz, 2H). <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  208.9 (C), 178.4 (C), 42.3 (CH<sub>2</sub>), 33.0 (CH<sub>2</sub>), 29.3 (qt, *J* = 19.3 MHz, CH), 18.6 (CH<sub>3</sub>). MS-ESI<sup>+</sup>: [M+Na]<sup>+</sup> calcd for C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>D<sub>2</sub>NaO<sub>3</sub>; 155.0647; found 155.0641.

#### General Procedure for the oxo-alcohol ketones in aqueous media

In an ordinary vial the catalyst *cisplatin* (1 mol%, 0.002 mmol) was added to a stirred solution of pent-4-yn-1-ol or pent-4-en-1-ol (0.2 mmol) in 0.2 mL of water. After complete consumption of the alcohol (usually 5–18 days, as monitored by <sup>1</sup>H NMR spectroscopy), the reaction mixture was extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2  $\times$  5 mL). The organic phase was dried with anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and finally the product was purified following the procedure indicated in each case.

**5-Hydroxypentan-2-one (9).** The product was directly obtained with a conversion of 48% following the standard procedure using the catalyst indicated in Scheme 3 as yellow oil (conversion = 48% after 2 days, 31% yield; conversion = 100% after 7 days, 14 mg, 67% yield) without further purification. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  3.58 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.52 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 2.11 (s, 3H), 1.77 (tt, *J* = 6.9, 6.2 Hz, 2H). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta$  209.4 (C), 62.2 (CH<sub>2</sub>), 40.5 (CH<sub>2</sub>), 30.0 (CH<sub>3</sub>), 26.5 (CH<sub>2</sub>). MS-ESI<sup>+</sup>: [M-H<sub>2</sub>O+H]<sup>+</sup> calcd for C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>O<sub>2</sub>: 85.0648; found 85.0656.

**(5-(2-Methyl-tetrahydrofuran-2-yloxy)pentan-2-one (9').** The product was directly obtained following the standard procedure using the catalyst indicated in Scheme 3 as yellow oil (after 2 days, 22% yield) without further purification. <sup>1</sup>H NMR (500 Hz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  3.84–3.80 (m, 1H), 3.78–3.74 (m, 1H), 3.39 (dt,  $J$  = 9.3, 6.4 Hz, 1H), 3.33 (dt,  $J$  = 9.3, 6.1 Hz, 1H), 2.42 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 1H), 2.40 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 1H), 2.08 (s, 3H), 1.98–1.90 (m, 2H), 1.85–1.81 (m, 1H), 1.73 (tt,  $J$  = 7.3, 6.3 Hz, 2H), 1.66–1.63 (m, 1H), 1.35 (s, 3H). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  208.9 (C), 107.4 (C), 67.5 (CH<sub>2</sub>), 59.9 (CH<sub>2</sub>), 40.7 (CH<sub>2</sub>), 38.0 (CH<sub>2</sub>), 29.9 (CH<sub>3</sub>), 24.6 (CH<sub>2</sub>), 24.5 (CH<sub>2</sub>), 22.0 (CH<sub>3</sub>). MS-ESI<sup>+</sup>: [M+Na]<sup>+</sup> calcd for C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>NaO<sub>2</sub>: 209.1148; found 209.1154.

**Pent-3-en-1-ol (11).** The product was directly obtained following the standard procedure after 4 days with 72% conversion using the catalyst indicated in Scheme 3 as yellow oil inseparable from **9** and **9'** without further purification (12 mg, 59% yield). <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  5.59–5.53 (m, 1H), 5.45–5.38 (m, 1H), 3.61 (t,  $J$  = 6.5 Hz, 2H), 2.27 (dt,  $J$  = 6.5, 1.1 Hz, 1H), 2.24 (dt,  $J$  = 6.5, 1.1 Hz, 1H), 1.69 (d,  $J$  = 6.3 Hz, 3H). <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  128.1 (CH), 127.2 (CH), 62.0 (CH<sub>2</sub>), 35.9 (CH<sub>2</sub>), 18.0 (CH<sub>3</sub>).

#### General Procedure used for the samples in the kinetic studies

The sample for the kinetic studies was prepared as follows: an aqueous solution of 4-pentynoic acid was added to another aqueous solution of *cis*-PtCl<sub>2</sub>(<sup>15</sup>N-NHMe<sub>2</sub>)<sub>2</sub>. The mixture was prepared using the ratios: [H<sub>2</sub>O]/[D<sub>2</sub>O] = 90 : 10, platinum concentration = 2.5 mM and acid/Pt = 100 : 1. The time-dependent transformation of the mixture at 298 K was monitored by 1D <sup>1</sup>H and 2D [<sup>1</sup>H, <sup>15</sup>N] HSQC NMR spectroscopy. NMR spectra were recorded on a Bruker DRX-500 spectrometer (<sup>1</sup>H 500.13 MHz, <sup>15</sup>N 50.68 MHz). The <sup>1</sup>H and <sup>15</sup>N chemical shift were relative to TSP and liquid ammonia respectively. All NMR data were analyzed with the TopSpin program (Bruker). pH values were determined using a Metrohm 744 pH meter. The meter was calibrated using pH buffers at pH 7.00 and 4.01. Adjustments in pH for the titration were made at 6 and 10 using 0.1 and 0.01 M NaOH.

#### Acknowledgements

This work was made possible by the Ministerio de Educación y Ciencia (grant SAF2009-09431), which is gratefully acknowledged. The Ministerio de Ciencia e Innovación is thanked for a Ramón y Cajal contract (J. A.) and a pre-doctoral fellowship (V. S.).

#### Notes and references

- 1 L. Kelland, *Nat. Rev. Cancer*, 2007, **7**, 573–584.
- 2 B. Lippert, *Metal Ions in Biological Systems*, Vol 33, 1996, **33**, 105–141.
- 3 N. Farrell, T. T. B. Ha, J. P. Souchard, F. L. Wimmer, S. Cros and N. P. Johnson, *J. Med. Chem.*, 1989, **32**, 2240–2241.
- 4 M. Coluccia, A. Nassi, F. Loseto, A. Boccarelli, M. A. Mariggio, D. Giordano, F. P. Intini, P. Caputo and G. Natile, *J. Med. Chem.*, 1993, **36**, 510–512.
- 5 E. I. Montero, S. Diaz, A. M. Gonzalez-Vadillo, J. M. Perez, C. Alonso and C. Navarro-Ranninger, *J. Med. Chem.*, 1999, **42**, 4264–4268.
- 6 U. Kalinowska-Lis, J. Ochocki and K. Matlawska-Wasowska, *Coord. Chem. Rev.*, 2008, **252**, 1328–1345.
- 7 M. A. Sheena and P. F. Nicholas, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2009, 1293–1302.
- 8 L. Cubo, A. Casini, C. Gabbiani, G. Mastrobuoni, L. Messori, J. Jimenez-Barbero, C. Navarro-Ranninger and A. G. Quiroga, *Chem.–Eur. J.*, 2009, **15**, 9139–9146.
- 9 A. R. Timerbaev, C. G. Hartinger, S. S. Alekseenko and B. K. Keppler, *Chem. Rev.*, 2006, **106**, 2224–2248.
- 10 J. Aleman, V. del Solar and C. Navarro-Ranninger, *Chem. Commun.*, 2010, **46**, 454–456.
- 11 L. Cubo, A. G. Quiroga, J. Zhang, D. S. Thomas, A. Carnero, C. Navarro-Ranninger and S. J. Berners-Price, *Dalton Trans.*, 2009, 3457–3466.
- 12 D. S. Helfer, D. S. Phaho and J. D. Atwood, *Organometallics*, 2005, **25**, 410–415.
- 13 M. F. N. N. Carvalho, A. S. D. Ferreira and R. Herrmann, *J. Organomet. Chem.*, 2006, **691**, 4124–4127.
- 14 A. P. Davis, D. N. Sheppard and B. D. Smith, *Chem. Soc. Rev.*, 2007, **36**, 348–357.
- 15 F. Arnesano, S. Scintilla and G. Natile, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2007, **46**, 9062–9064.
- 16 T. Mitsudo, Y. Hori, Y. Yamakawa and Y. Watanabe, *J. Org. Chem.*, 1987, **52**, 2230–2239.
- 17 T. L. Mindt and R. Schibli, *J. Org. Chem.*, 2007, **72**, 10247–10250.
- 18 K. Komeyama, K. Takahashi and K. Takaki, *Chem. Lett.*, 2008, **37**, 602–603.
- 19 L. Cubo, D. S. Thomas, J. Zhang, A. G. Quiroga, C. Navarro-Ranninger and S. J. Berners-Price, *Inorg. Chim. Acta*, 2009, **362**, 1022–1026.
- 20 Y. Chen, Z. Guo and P. J. Sadler, in *Cisplatin*, ed. Prof. B. Lippert, 2006, pp. 293–318.
- 21 S. J. Berners-Price, T. A. Frenkiel, U. Frey, J. D. Ranford and P. J. Sadler, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1992, 789–791.
- 22 The amount of speciation has been calculated from the total area of the crosspeaks in each spectrum. The titration was also performed in this sample and did not affect the new signals  $\nu$  and  $\nu$ i, which indicates that those species are obviously not aqua species.
- 23 The free dimethylamine peak can already be detected after 5 h of reaction but as a minor product (4% compared to 43% of the aqua species). The free amine signal became important with the first sign of a second reaction observed in this catalytic study: the opening of the cyclation affording a new acid where the alkyne moiety is transformed into a ketone (observed in the <sup>1</sup>H NMR, Fig. 2 from 10 h on, compound starred in the spectra).
- 24 J. H. Price, A. N. Williamson, R. F. Schramm and B. B. Wayland, *Inorg. Chem.*, 1972, **11**, 1280.
- 25 R. Melanson and F. D. Rochon, *Can. J. Chem.*, 1975, **53**, 2371–2374.

Cite this: *Med. Chem. Commun.*, 2011, 2, 789

www.rsc.org/medchemcomm

## CONCISE ARTICLE

Novel *N*-sulfonamide trans-platinum complexes: synthesis, reactivity and *in vitro* evaluation†José Alemán,<sup>a</sup> Virginia del Solar,<sup>b</sup> Amparo Alvarez-Valdés,<sup>b</sup> Carla Ríos-Luci,<sup>c</sup> José M. Padrón<sup>c</sup> and Carmen Navarro-Ranninger<sup>a,b</sup>

Received 8th March 2011, Accepted 20th May 2011

DOI: 10.1039/c1md00070e

In this work, we described for the first time the synthesis of *trans-N*-sulfonamide platinum complexes. The antiproliferative activity (GI<sub>50</sub>, μM) of these new compounds in human solid tumors cells was compared to cisplatin.

## Introduction

Among the traditional antitumour metal compounds,<sup>1</sup> cisplatin (CDDP)<sup>2</sup> remains the most successful drug and has been used in nearly 50% of all tumor therapies. However, many different adverse effects, such as dose-limiting, nephrotoxicity, peripheral neuropathy, tinnitus and hearing loss, are known.<sup>3</sup> Thousands of platinum complexes have been evaluated during the last half-century.<sup>4</sup> Continuous searching for new metallodrugs has provided novel platinum complexes with different reactivities,<sup>5</sup> including some rule-breakers,<sup>6</sup> etc. leading medicinal chemists to find new platinum complexes with improved biological activities and enhanced pharmacological profiles.

*N*-Sulfonamides have been utilized extensively in medicinal chemistry.<sup>7</sup> Since they are original antibacterial agents (*i.e.*, the sulfa drugs), many other activities have also been described; anticonvulsant (Sultiame),<sup>8</sup> as inhibitors of the carbonic anhydrase,<sup>8,9</sup> inhibitors of histone deacetylases,<sup>10</sup> inhibitors of microtubule polymerization,<sup>11</sup> non-peptide luteinizing hormone-releasing hormone antagonists,<sup>12</sup> and PET agents for imaging of tubulin polymerization in cancer.<sup>13</sup>

Interestingly, the inclusion of these *N*-sulfonamides in platinum complexes has received relatively little attention. Despite the fact that together platinum and sulfonamide structures could have a synergistic or complementary effect in the treatment of cancer processes, only few platinum complexes with *cis*-geometry have been synthesized and none of them have been evaluated in biological assays.<sup>14–16</sup> In 1999, Cagné *et al.* described the synthesis of chiral platinum bisulfonamides, obtaining a number

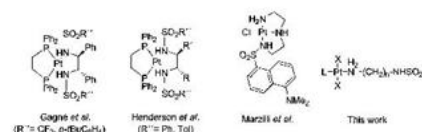
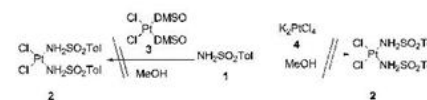
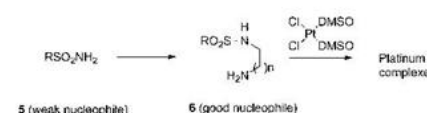
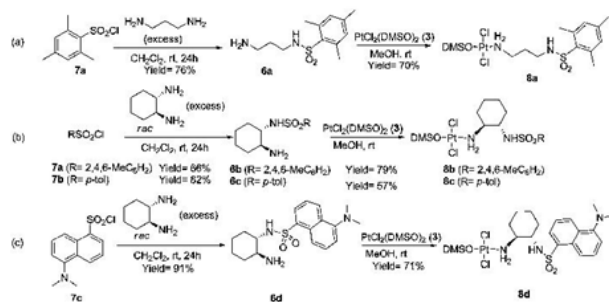


Fig. 1 Reported and proposed platinum sulfonamide complexes.

of interesting complexes, however they were not biologically evaluated (left, Fig. 1).<sup>14</sup> Later, Henderson *et al.*<sup>15</sup> synthesized similar bisulfonamides, with small structural changes (middle-left, Fig. 1). Interestingly, and more recently, Marzilli *et al.*<sup>16</sup> reported the synthesis of polyamines with a fluorophore unit as a part of the *N*-sulfonamide (middle-right, Fig. 1). Although their interactions with various biomolecules were studied, no biological data concerning their antitumor effects were described. More recently, Goldberg and coworkers showed the synthesis of platinum(IV) sulfonamides for mechanistic studies.<sup>17</sup>

Scheme 1 First trials for the synthesis of platinum *N*-sulfonamide complexes.Scheme 2 Strategy for the synthesis of mono-*N*-sulfonamide platinum complexes.<sup>a</sup>Departamento de Química Orgánica (C-1), Universidad Autónoma de Madrid, Cantoblanco, 28049 Madrid, Spain<sup>b</sup>Departamento de Química Inorgánica (C-7), Universidad Autónoma de Madrid, Cantoblanco, 28049 Madrid, Spain; Fax: +34 914974833<sup>c</sup>Instituto Universitario de Bio-Organica "Antonio González" (IUBO-AG), Universidad de La Laguna, CI Astrofísico Francisco Sánchez 2, 38206 La Laguna, Spain. E-mail: jose.aleman@uam.es; carmen.navarro@uam.es

† Electronic supplementary information (ESI) available. CCDC reference number 805611. For ESI and crystallographic data in CIF or other electronic format see DOI: 10.1039/c1md00070e

Scheme 3 Synthesis of mono-*N*-sulfonamide platinum complexes 8a–d.

In all of these cases, only *cis*-platinum complexes and their derivatives were synthesized and not the analogous *trans*-platinum complexes.

As part of our program dealing with *trans*-platinum complexes,<sup>18</sup> our research group has found that these complexes, with several and different aliphatic amines in *trans* geometry, display in some cases higher activity than cisplatin. Cytotoxicity data obtained from these complexes are very promising, because in general, they do not exhibit cross-resistance with cisplatin.<sup>19</sup> It should be emphasized that some of these *trans* complexes, such as for example *trans*-[PtCl<sub>2</sub>(dimethylamine)(isopropylamine)], are able to kill cisplatin resistant cell lines through apoptosis and that, moreover, these complexes are also active "*in vivo*".<sup>20</sup>

Based on these precedents from our own research and from the literature, we envisioned the use of mono-sulfonamide complexes as an interesting topic for various reasons: (i) to the best of our knowledge, no examples of *trans*-platinum complexes with sulfonamide ligands have been described (right, Fig. 1), (ii) the use of sulfonamides represents a versatile strategy because they would allow for the synthesis of biologically interesting complexes by selection of the appropriate R group (*e.g.* fluorophore units, DNA intercalators, *etc.*, right, Fig. 1), (iii) finally, the biological evaluation of these compounds would provide

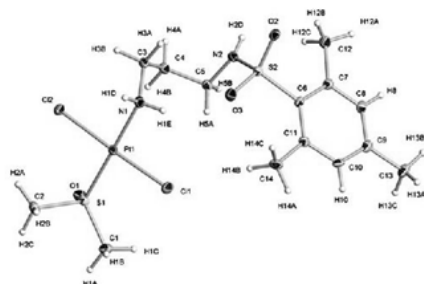
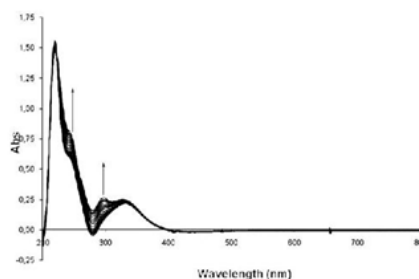
information on the activities of combinations of the *N*-sulfonamide and platinum complexes against cancer cells which until now has not been available.

### Synthesis

Our first approach to the synthesis of the sulfonamide platinum complexes was the direct reaction of simple commercially available *N*-sulfonamide **1** with different platinum species, such as K<sub>2</sub>PtCl<sub>4</sub> (**4**) or PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub> (**3**). However, no reaction was observed in either case, probably due to the low nucleophilicity of the nitrogen of the *N*-sulfonamide **1** (Scheme 1).

With these initial data in hand, we hypothesized that having a more reactive nucleophile would allow for formation of the desired complexes. Thus, we attempted the aminesulfonamides **6** which, as primary amines, should undergo rapid addition to the electrophilic platinum (Scheme 2).

Along these lines, we selected for our efforts propane-1,3-diamine and the bulkier diamine *rac-trans*-1,2-cyclohexanediamine. We were pleased to find that upon addition of the propane-1,3-diamine to a dilute solution of the commercially available 2,4,6-trimethylphenylsulfonyl chloride **7a** in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> at room temperature, bis-sulfonylation was not observed and the mono-sulfonamide **6a** was isolated in good yield (eqn (a),

Fig. 2 X-Ray analysis ORTEP of compound **8a**. Ellipsoids displayed at 30% probability.Fig. 3 Interaction of compound **8d** with GMP at different times.



Scheme 3). In order to obtain the bulkier ligand **6b**, we carried out the same reaction with the *rac*-trans-1,2-cyclohexanediamine and the sulfonyl chloride **7a**. A similar result was obtained when *p*-toluene-sulfonyl chloride **7b** (instead of 2,4,6-trimethylbenzene sulfonyl chloride **7a**) was used (eqn (b), Scheme 3). In addition, we were able to incorporate 5-(dimethylamino)naphthalene-1-sulfonyl chloride (dansyl chloride) **7c** which can act as fluorophore unit<sup>21</sup> and could be useful for *in vivo* evaluation (eqn (c), Scheme 3). These results indicate that this is a general methodology for the synthesis of mono-sulfonamide ligand **6**.

With ligands **6a–d** in hand, we accomplished the synthesis of their corresponding platinum complexes **8a–d** by the addition of the *N*-sulfonamides **6a–d** to a solution of *cis*-PtCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub> in methanol at room temperature. After 48–64 hours, a yellow precipitate was obtained. The reaction mixture was filtered and the resulting solid was washed with cold methanol (see the ESI† for more details) to provide pure compounds without further purification and in good yields (right, Scheme 3). The *trans*-configuration of the complex **8a** was confirmed by X-ray analysis (Fig. 2)<sup>22</sup> and **8a–c** were assumed to have the same configuration based on similarity in the NMR data (see the ESI†).

### Interaction experiments and biological evaluation

Before attempting more advanced biological studies, we performed some simple experiments in order to better understand the possible interaction between these new complexes **8a–d** and DNA. One model system with which to perform these interaction experiments was the guanosine monophosphate (GMP). NMR experiments were not possible due to their broad signals and the difficulty of clearly identifying the interaction of the complex with GMP. Therefore, we incubated the sulfonamide complex **8d** (the most UV active complex due to the fluorophore unit<sup>21</sup>) with the commercially available guanosine monophosphate (GMP), and studied their interaction by UV-visible spectrophotometry

**Table 1** Data for ESI-MS experiment of complex **8d** treated with GMP (metal : GMP ratio 1 : 1). *L* = **6d**

Entry	<i>m/z</i>	Adduct
1	362	(Free GMP)
2	585	Pt(GMP) + MeOH
3	902	Pt(GMP)(L)

which is outlined in Fig. 3.<sup>23</sup> Two characteristic absorption peaks were observed for the complex **8d** at *t* = 0 hours (240 nm and 330 nm). After 24 h incubation at 37 °C, the absorption band at 240 nm became more intense, and a new absorption at 296 nm appeared, suggesting that an interaction between GMP and the platinum complex **8d** had taken place. These data could be consistent with the antiproliferative test which is usually carried out at 24–48 h (see below).

Following these initial trials, and in order to confirm the interaction between complexes **8** and GMP, various mass spectrometry experiments were carried out. Thus, we found that incubation of complex **8d** with GMP, analyzed by electrospray ionization-mass spectrometry (ESI-MS),<sup>24</sup> provided three main signals (Table 1 and ESI†). The first peak at 362 *m/z* matched with the free GMP. The two additional major peaks (585 and 902 *m/z*) displayed the typical isotope patterns for platinum compounds, indicating that complexation of the platinum atom with GMP has occurred. According to the proposed complexation mechanisms,<sup>25</sup> an aquation of one chloride ligand of complex **8d** should take place, and the corresponding mono-aqua-complex of **8d** could then interact with GMP. This extent was confirmed by the peak observed at mass 902 *m/z* (entry 3, Table 1). Further evidence is offered by the substitution of the sulfonamide ligand with MeOH, which gives the peak at 585 *m/z*, corresponding to the GMP/Pt complex without the sulfonamide group.

The antiproliferative activity of **8a–d** was evaluated against a panel of representative human tumor cell lines including

**Table 2** Antiproliferative activity (GI<sub>50</sub>, μM) of **8a–d** in comparison to CDDP in human solid tumor cells<sup>a</sup>

Entry	Complex	HBL-100	HeLa	Ishikawa	SW1573	WiDr
1	<b>8a</b>	28 (±5.4)	23 (±5.2)	17 (±1.6)	27 (±2.9)	25 (±3.0)
2	<b>8b</b>	2.2 (±0.22)	2.2 (±0.06)	1.8 (±0.28)	3.4 (±0.31)	2.6 (±0.69)
3	<b>8c</b>	1.7 (±0.28)	2.3 (±0.34)	2.6 (±0.91)	2.5 (±0.51)	3.5 (±1.0)
4	<b>8d</b>	1.7 (±0.65)	1.8 (±0.71)	2.3 (±0.12)	2.6 (±0.62)	3.0 (±0.34)
5	CDDP	1.9 (±0.16)	2.0 (±0.32)	8.9 (±1.3)	3.0 (±0.37)	26 (±5.3)

<sup>a</sup> Data were collected after 48 h of exposure to the drugs. Values are given in μM (between brackets are the standard deviation results and are the means of 3–5 experiments).

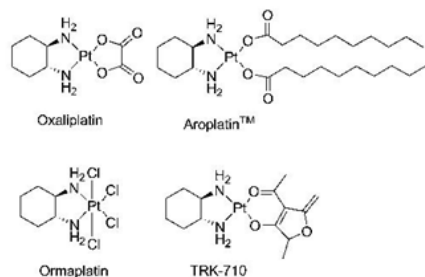


Fig. 4 Different platinum complexes with the 1,2-cyclohexanediamine.

HBL-100 (breast), HeLa (cervix), Ishikawa (endometrial), SW1573 (non-small cell lung) and WiDr (colon), using the SRB assay.<sup>26</sup> The experimental  $GI_{50}$  values are summarized in Table 2 and compared to those of CDDP after 48 h of treatment. Notably, for most of the selected cell lines, complex **8a** was found to be less active than cisplatin, except for WiDr (colon) which was similar to CDDP (entry 1, Table 2). In the same context, several drugs based on platinum chemistry have the *trans*-1,2-cyclohexanediamine group in their structure (see Fig. 4). Thus, *e.g.* Oxaliplatin (Eloxatin<sup>TM</sup>) is a recent world-wide approved drug by FDA in combination with 5-fluorouracil and leucovorin for patients with colorectal cancers (top-left, Fig. 4). Other relevant examples with the cyclohexanediamine moiety are Aroplatin, Ormaplatin (also known as tetraplatin and NSC 363812) and TRK-710 which have been in recent clinical trials and with different results (Fig. 4). For these reasons we chose the 1,2-*trans*-cyclohexanediamine, and we synthesized complexes **8b–d** (Scheme 3).

Interestingly, the change of a linear alkyl chain (**8a**) to a cyclic hexyldiamine (**8b**) increased the biological activity against all the tested cell lines. Compound **8b** was 10 fold more potent than the *n*-propyl derivative **8a**, and more interestingly, it was also more active than CDDP against WiDr and Ishikawa cell lines (entries 2 and 5, Table 2). The substitution of the 2,4,6-trimethylbenzene (**8b**) by a tolyl group (**8c**) resulted in only minor differences, and has also a slight change for some cell lines (see entries 3 and 4).

Finally, for practical reasons, we synthesized the fluorophore derivative **8d**, in order to follow the compound due to its fluorescent properties.<sup>21</sup> We found the best activities for this compound, which was active against all cell lines, with a similar activity against HBL-100, HeLa, SW1573 and four-eight times higher in WiDr and Ishikawa cell lines when compared to CDDP. These results indicated again that a bulkier group at the sulfonamide moiety has a positive effect in the antiproliferative activity.

## Conclusions

In this work, a comparison of the antiproliferative activities between novel *trans*-*N*-sulfonamide platinum complexes and CDDP was described. To the best of our knowledge, this is the first report of the antiproliferative activity of sulfonamide

platinum complexes. We provide important and relevant data for the synthesis of future new platinum complexes with sulfonamide ligands. The synthesis of these novel platinum complexes is easy and rapidly accessible in only two synthetic steps from commercially available starting materials. We are currently running *in vivo* studies in order to study the maximum tolerated dose of these novel drugs and the results will be reported elsewhere.

## Acknowledgements

We acknowledge grants co-financed by the European Social Fund (FEDER) from the Spanish MEC (SAF2009-09431), the Spanish MICINN (CTQ2008-06806-C02-01/BQU), the Spanish MSC (RTICC RD06/0020/1046), the Canary Islands ACIISI (PI2007/021), and the Canary Islands FUNCIS (PI 35/06 and 43/09). J.A. and J.M.P. thank the Spanish MICINN for Ramón y Cajal contracts. V.S. thanks the Spanish MICINN for a predoctoral fellowship. We acknowledge the technical assistance of Cesar Pastor and Sidi (UAM) for the X-ray analysis.

## Notes and references

- (a) For recent reviews in the use of metal compounds in medicinal chemistry, see: M. A. Jakupiec, M. Galanski, V. B. Arion, C. G. Hartinger and B. K. Keppler, *Dalton Trans.*, 2008, 183; (b) T. W. Hambley, *Dalton Trans.*, 2007, 4929; (c) R. W.-Y. Sun, D.-L. Ma, E. L.-M. Wong and C. M. Che, *Dalton Trans.*, 2007, 4884; (d) S. P. Fricker, *Dalton Trans.*, 2007, 4903; (e) G. Gasser, I. Ott and N. Metzler-Nolte, *J. Med. Chem.*, 2011, **54**, 3; (f) A. M. Pizarro, A. Habtemariam and P. J. Sadler, *Top. Organomet. Chem.*, 2010, **32**, 21; (g) S. H. Rijit and P. J. Sadler, *Drug Discovery Today*, 2009, **14**, 1089; (h) P. C. A. Bruijninx and P. J. Sadler, *Adv. Inorg. Chem.*, 2009, **61**, 1; (i) A. M. Pizarro and P. J. Sadler, *Nucleic Acid-Metal Ion Interactions*, ed. N. V. Hud, 2009, pp. 350–416.
- B. Rosenberg, *Interdiscip. Sci. Rev.*, 1978, **3**, 134.
- P. J. O'Dwyer, J. P. Stevenson and S. W. Johnson, *Drugs*, 2000, **59** (suppl. 4), 19.
- (a) For recent reviews in platinum anticancer complexes, see: M. Bruyninx and P. J. Sadler, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2008, **12**, 197; (b) L. Kelland, *Expert Opin. Invest. Drugs*, 2007, **16**, 1009.
- (a) J. Alemán, V. del Solar and C. Navarro-Ranninger, *Chem. Commun.*, 2010, **46**, 454; (b) J. Alemán, V. del Solar, L. Cubo, A. G. Quiroga and C. Navarro-Ranninger, *Dalton Trans.*, 2010, **39**, 10601.
- See *e.g.*: L. Messori, A. Casini, C. Gabbiani, E. Michelucci, L. Cubo, C. Rios-Luci, J. M. Padrón, C. Navarro-Ranninger and A. G. Quiroga, *ACS Med. Chem. Lett.*, 2010, **1**, 381.
- (a) N. Anand, *Sulfonamides and Sulfones*, in *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery*, ed. M. E. Wolff, Therapeutic Agents, J. Wiley & Sons, New York, 5th edn, 1996, Vol. 2, pp. 527–544; (b) C. T. Supuran and A. Scozzafava, *Expert Opin. Ther. Pat.*, 2002, **12**, 217; (c) A. Scozzafava, T. Owa, A. Mastrototorenzo and C. T. Supuran, *Curr. Med. Chem.*, 2003, **10**, 925.
- The Carbonic Anhydrases New Horizons*, ed. W. R. Chegwidden, N. D. Carter and Y. H. Edwards, Birkhäuser, Basel, 2000.
- (a) M. F. Sugrue, *Pharmacol. Ther.*, 1989, **43**, 91; (b) M. F. Sugrue, *J. Med. Chem.*, 1997, **40**, 2793; (c) C. T. Supuran and A. Scozzafava, *Curr. Med. Chem.: Immunol., Endocr. Metab. Agents*, 2001, **1**, 61.
- M. Fournel, M.-C. Trachy-Bourget, P. T. Yan, A. Kalita, C. Bonfils, C. Beaulieu, S. Frechette, S. Leit, E. Abou-Khalil, S.-H. Woo, D. Delorme, A. R. MacLeod, J. M. Besterman and Z. Li, *Cancer Res.*, 2002, **62**, 4325.
- R. Mohan, M. Banerjee, A. Ray, T. Manna, L. Wilson, T. Owa, B. Bhattacharyya and D. Panda, *Biochemistry*, 2006, **45**, 5440.
- K. Hashimoto, M. Tatsuta, M. Kataoka, K. Yasoshima, Y. Shogase, M. Shimzaki, T. Yura, Y. Li, N. Yamamoto, J. B. Gupta and K. Urbanis, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2005, **15**, 799.

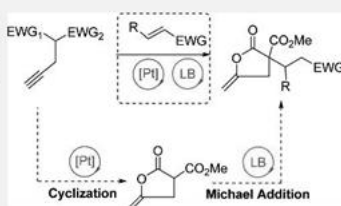
- 13 M. Wang, M. Gao, K. D. Miller, G. W. Sledge, G. D. Hutchins and Q.-H. Zheng, *J. Labelled Compd. Radiopharm.*, 2008, **51**, 6.
- 14 J. J. Becker, P. S. White and M. R. Cagné, *Inorg. Chem.*, 1999, **38**, 798.
- 15 C. Evans, W. Henderson and B. K. Nicholson, *Inorg. Chim. Acta*, 2001, **314**, 42.
- 16 A. M. Christoforou, P. A. Marzilli and L. G. Marzilli, *Inorg. Chem.*, 2006, **45**, 6771.
- 17 A. V. Pawlikowski, A. D. Getty and K. I. Goldberg, *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, **129**, 10382.
- 18 See, e.g.: (a) A. G. Quiroga, J. M. Pérez, C. Alonso, C. Navarro-Ranninger and N. Farrell, *J. Med. Chem.*, 2006, **49**, 224; (b) F. J. Ramos-Lima, A. G. Quiroga, B. García-Serrelle, F. Blanco, A. Carnero and C. Navarro-Ranninger, *J. Med. Chem.*, 2007, **50**, 2194; (c) L. Cubo, T. W. Hambley, P. Sanz Miguel, A. Carnero, C. Navarro-Ranninger and A. Quiroga, *Dalton Trans.*, 2011, **40**, 344; (d) L. Cubo, M. Groessl, P. Dyson, A. Quiroga, C. Navarro-Ranninger and A. Casini, *ChemMedChem*, 2010, **5**, 1335; (e) L. Cubo, A. M. Pizarro, A. Quiroga, L. Salassa, C. Navarro-Ranninger and P. J. Sadler, *J. Inorg. Biochem.*, 2010, **104**, 909; (f) F. Ramos-Lima, V. Moneo, A. G. Quiroga, A. Carnero and C. Navarro-Ranninger, *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, **45**, 134.
- 19 For a review in cisplatin resistance, see: B. Köberle, M. T. Tomčić, S. Usanova and B. Kaina, *Biochim. Biophys. Acta, Gen. Subj.*, 2010, **1806**, 172.
- 20 J. M. Perez, L. R. Kelland, E. Montero, F. E. Boxall, M. A. Fuertes, C. Alonso and C. Navarro-Ranninger, *Mol. Pharmacol.*, 2003, **63**, 933.
- 21 See e.g.: (a) J. Rohacova, M. L. Marin, A. Martínez-Romero, J. E. O'Connor, M. J. Gomez-Lechon, M. T. Donato, J. V. Castell and M. A. Miranda, *Org. Biomol. Chem.*, 2009, **7**, 4973; (b) A. Misra, S. Mishra and K. Misra, *Bioconjugate Chem.*, 2004, **15**, 638; (c) N. Wanichacheva, S. Watpathomsub, V. S. Lee and K. Grudpan, *Molecules*, 2010, **15**, 1798.
- 22 CCDC 805611 (**8a**) contains the supplementary crystallographic data†.
- 23 The platinum complex **8d** was not completely soluble in H<sub>2</sub>O and the GMP was not soluble in MeOH. For this reason the experiment was carried out in a 1 : 1 mixture water/MeOH.
- 24 (a) C. G. Hartinger, W. H. Ang, A. Casini, L. Messori, B. Keppler and P. J. J. Dyson, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2007, **22**, 960; (b) A. Casini, C. Gabbiani, E. Michelucci, G. Pieraccini, G. Moneti, P. J. Dyson and L. Messori, *J. Biol. Inorg. Chem.*, 2009, **14**, 761; (c) A. Casini, A. Guerri, C. Gabbiani and L. Messori, *J. Inorg. Biochem.*, 2008, **102**, 995; (d) A. Casini, C. Gabbiani, G. Mastrobuoni, R. Z. Pellicani, F. P. Intini, F. Arnesano, G. Natile, G. Moneti, S. Francese and L. Messori, *Biochemistry*, 2007, **46**, 12220; (e) A. Casini, C. Gabbiani, G. Mastrobuoni, L. Messori, G. Moneti and G. Pieraccini, *ChemMedChem*, 2006, **1**, 413.
- 25 (a) S. J. Berners-Price, T. A. Frenkiel, U. Frey, J. D. Ranford and P. J. Sadler, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1992, 789; (b) S. J. Berners-Price, T. A. Frenkiel, U. Frey, J. D. Ranford and P. J. Sadler, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1992, 789; (c) For a recent publication, see: L. Cubo, A. G. Quiroga, J. Zhang, D. S. Thomas, A. Carnero, C. Navarro-Ranninger and S. J. Berners-Price, *Dalton Trans.*, 2009, 3457, and references cited therein.
- 26 P. O. Miranda, J. M. Padrón, J. I. Padrón, J. Villar and V. S. Martín, *ChemMedChem*, 2006, **1**, 323.

## Tandem Cyclization–Michael Reaction by Combination of Metal- and Organocatalysis

José Alemán,<sup>\*,†</sup> Virginia del Solar,<sup>‡</sup> Cecilia Martín-Santos,<sup>‡</sup> Leticia Cubo,<sup>‡</sup> and Carmen Navarro Ranninger<sup>‡</sup><sup>†</sup>Departamento de Química Orgánica (C-1) and <sup>‡</sup>Departamento de Química Inorgánica (C-7), Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Madrid, Cantoblanco 28049-Madrid, Spain

Supporting Information

**ABSTRACT:** The use of a catalytic amount of platinum complexes (1 mol %) was found to be compatible with different organocatalysts (DABCO or the Jørgensen–Hayashi catalyst) that were used in the functionalization of various activated methylenes. By this method, a series of lactones with C-3 quaternary centers and substitution at C-5 were prepared.



Lactones are present in a large number of natural products. Recently, a variety of lactones with quaternary centers at C-3 and substitution at C-5 have been isolated.<sup>1</sup> Examples of complex structures which incorporate this moiety include spirovibsanin (A),<sup>1a,b</sup> *trans*-dehydrocrotonin (B),<sup>1c</sup> and biologically active tetranorditerpenoids (C)<sup>1d</sup> (Figure 1), along with teucrin A,<sup>1e</sup> neoclerodane diterpenes,<sup>1f</sup> and sesquiterpenes of *Collybia maculata* (not shown).<sup>1g</sup> Less complex examples include some  $\beta$ 3-adrenergic receptor agonists (D)<sup>2a</sup> and serine protease inhibitors (E)<sup>2b</sup>. Various methodologies have been developed for the synthesis of furanones with this substitution pattern (F).<sup>2c,d</sup>

In the past decade, organocatalysis<sup>3</sup> has opened a new window for carrying out organic transformations. One of its primary advantages is the avoidance of expensive metal reagents or catalysts. However, more recent attention has been focused on the combination of metal<sup>4</sup> and organocatalysis<sup>3</sup> to provide a complementary method for obtaining new complex structures or for enhancing the reactivity of the metal.<sup>5</sup> Dixon,<sup>6a</sup> Jørgensen,<sup>6b</sup> and Córdova<sup>6c</sup> have each reported catalytic systems involving initial activation using a Lewis base followed by  $\pi$ -alkyne trapping with a metal catalyst (eq 1, Scheme 1).

In this context, one of the most useful starting materials in organocatalysis is a methylene activated by two electron-withdrawing groups (EWG–CHR–EWG). However, a large difference in reactivity is observed between acyclic and cyclic substrates,<sup>7</sup> with better reactivities generally observed in the latter case due to increased acidity (see the Bordwell  $pK_a$  table).<sup>8</sup> Given our group's experience working with  $\pi$ -acid activated alkynes using platinum catalysis<sup>9</sup> and organocatalysis<sup>10</sup> although in the opposite mode as described above (i.e., first platinum catalysis, then the Lewis base), we hypothesized that propargyl malonate derivatives 1 could be cyclized using platinum to afford intermediate 3.

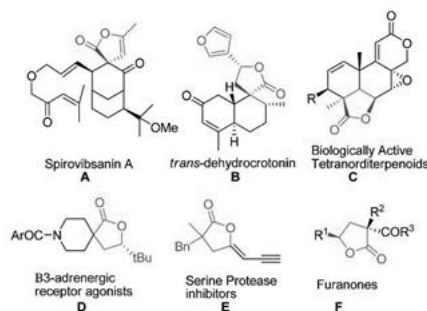


Figure 1. Lactones present in different natural products.

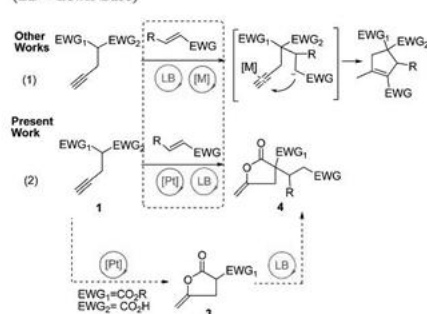
Subsequently, lactone 3, with its highly acidic  $\alpha$ -proton, would be a prime target for an organocatalytic addition to activated alkenes (eq 2, Scheme 1) to afford compounds 4. In this work, we present our efforts toward developing this tandem procedure for the synthesis of  $\gamma$ -lactones with a C-3 quaternary center.

We began by screening platinum catalysts (5a–f)<sup>9</sup> in toluene at room temperature while using 20 mol % of DABCO as the organocatalyst to deprotonate the acidic position. As shown in Table 1, the best catalyst was 5c,<sup>11</sup> which gave compound 4a with a conversion of 96% (entry 3, Table 1). Other similar catalysts,

Received: June 27, 2011  
Published: July 25, 2011

such as **5a**, **5b**, or the iodo derivative **5f** (entries 1, 2, and 6), gave only moderate conversion, and Pt(IV) complexes were even less successful (entries 4 and 5). No reaction of any kind was observed in the absence of platinum catalysts (entry 7), indicating that the cyclization was necessary to achieve deprotonation. Next, we tested different solvents (entries 8–10) and found that acetone, xylene, and toluene provided the best results.<sup>12</sup> However, reaction times were slightly better in acetone than in the nonpolar solvents. With these conditions in hand, we were prepared to investigate the scope of the reaction (Table 2).

**Scheme 1. Strategy for the Synthesis of Substituted Lactones (LB = Lewis Base)**



The ethyl-substituted malonate derivative **2b** gave the corresponding lactone (**4b**) in worse yield than **2a** (see entries 1 and 2, Table 2). Adding an extra methylene linker before the alkyne

**Table 2. Scope of the Reaction with Different Alkenes<sup>a</sup>**

entry	R <sup>1</sup> (n)	EWG/R <sup>2</sup> /R <sup>3</sup>	R <sup>3</sup>	yield <sup>b</sup> (%)
1	Me (1), <b>2a</b>	SO <sub>2</sub> Ph/H/H, <b>6a</b>	H	69, <b>4a</b>
2	Et (1), <b>2b</b>	SO <sub>2</sub> Ph/H/H, <b>6a</b>	H	46, <b>4b</b>
3 <sup>c</sup>	Et (2), <b>2c</b>	SO <sub>2</sub> Ph/H/H, <b>6a</b>	H	22, <b>4c</b>
4	Me (1), <b>2a</b>	CN/H/H, <b>6b</b>	H	70, <b>4d</b>
5	Me (1), <b>2a</b>	COMe/H/H, <b>6c</b>	H	71, <b>4e</b>
6	Me (1), <b>2a</b>	CO <sub>2</sub> Et/H/H, <b>6d</b>	H	66, <b>4f</b>
7	Me (1), <b>2a</b>	CN/H/Me, <b>6e</b>	Me	nr <sup>d</sup>
8	Me (1), <b>2a</b>	CN/H/Ph, <b>6f</b>	Ph	nr <sup>d</sup>
9	Me (1), <b>2a</b>	CO <sub>2</sub> Et/H/Me, <b>6g</b>	Me	nr <sup>d</sup>
10 <sup>e</sup>	Me (1), <b>2a</b>	CO <sub>2</sub> Et/CO <sub>2</sub> Et/Me, <b>6h</b>	Me	53, <b>4g</b> / <b>4g'</b>
11 <sup>f</sup>	Me (1), <b>2a</b>	NO <sub>2</sub> /H/Et, <b>6i</b>	Et	30, <b>4h</b> / <b>4h'</b>
12	Me (1), <b>2a</b>	NO <sub>2</sub> /H/Ph, <b>6j</b>	Ph	72, <b>4i</b> / <b>4i'</b>

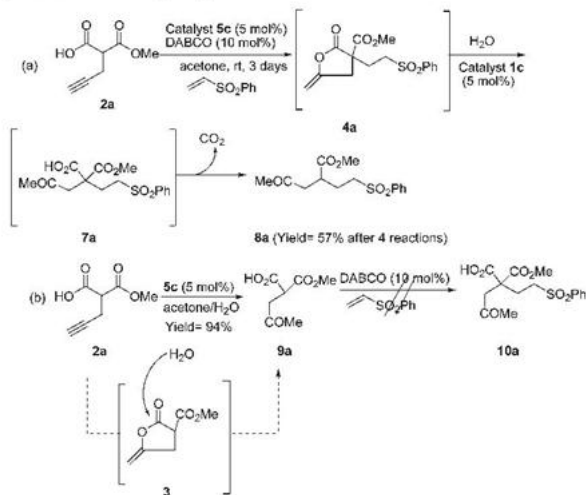
<sup>a</sup> All reactions were performed with 0.30 mmol of **2a–c**, 0.45 mmol of **6a–j**, 1 mol % of catalyst **5c**, 20 mol % of DABCO in 0.2 mL of acetone, and 50  $\mu$ L of H<sub>2</sub>O over 24 h. <sup>b</sup> Isolated yield after flash chromatography. <sup>c</sup> This reaction was stopped after 48 h. <sup>d</sup> No reaction. <sup>e</sup> A diastereomeric ratio of 3:1 was obtained.

**Table 1. Screening Platinum Catalysts for the Tandem Reaction of 2-(Methoxycarbonyl)pent-4-ynoic Acid **2a** in the Presence of Catalytic DABCO<sup>a</sup>**

entry	solvent	catalyst	conversion <sup>b</sup> (%)
1	Tol	<b>5a</b>	41
2	Tol	<b>5b</b>	57
3	Tol	<b>5c</b>	96
4	Tol	<b>5d</b>	0
5	Tol	<b>5e</b>	22
6	Tol	<b>5f</b>	29
7	Tol		nr <sup>c</sup>
8	xylene	<b>5c</b>	96
9	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	<b>5c</b>	73
10	acetone	<b>5c</b>	>98

<sup>a</sup> All reactions were performed on a 0.1 mmol scale in 0.1 mL of solvent and stopped after 24 h. <sup>b</sup> Conversion was determined by <sup>1</sup>H NMR. <sup>c</sup> No reaction.

Scheme 2. Decarboxylation Process and Opening Lactone with Water Molecule



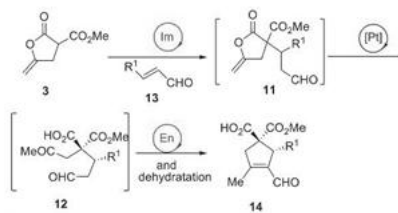
moiety was tolerated (e.g., 2c), but the yield was substantially decreased (entry 3).

Nitriles (6b), ketones (6c), and esters (6d) underwent the reaction in this catalytic system with malonate 2b, providing complete conversion and yields ranging from 66 to 71% (entries 4–6). Unfortunately,  $\beta$ -substituted double bonds 6e–g did not react under these conditions, indicating that a greater electronic activation was needed to overcome the added steric hindrance (entries 7–9). Thus, we attempted the reaction with trisubstituted alkene 6h, which provided the final product 4g/4g' as a 3:1 mixture of diastereomers (entry 10). Interestingly, a nitro group was also reactive enough with the  $\beta$ -substituted double bonds 6i and 6j to achieve the final compounds 4h and 4i in moderate to good yields (entries 11 and 12).<sup>13</sup>

To know if we could increase the number of the steps in which the catalyst is involved and to make the catalytic cycle more complex, we increased the catalytic loading of the platinum complex 5c to 5 mol % and lengthened the reaction time (eq a, Scheme 2). Under these conditions, the reaction gave known intermediate 4a (observed by TLC), which was then opened by attack of a water molecule to the ester moiety catalyzed by 5c that could act as a Lewis acid, enhancing this ring-opening process.<sup>14</sup> Thus, intermediate ketone 7a was obtained and was subsequently decarboxylated by the basic conditions of the reaction media (DABCO) to give the final sulfone 8a (eq a, Scheme 2).

Next, we performed an experiment to test the dependence of the Michael addition on the existence of a cyclic lactone intermediate (eq b, Scheme 2). We synthesized ketone 9a by formation of lactone 3 followed by opening with a water molecule catalyzed by platinum. Then, we tried to deprotonate it with 10 mol % of DABCO under the same reaction conditions, and

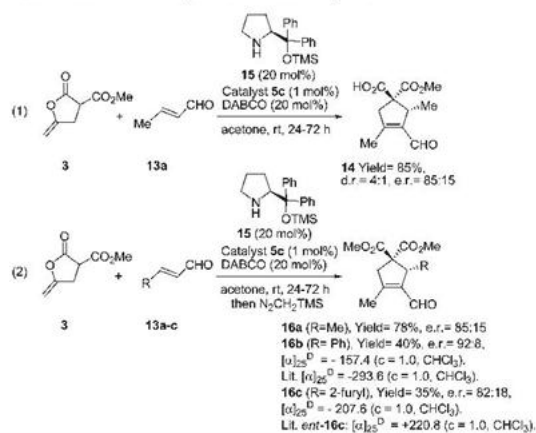
Scheme 3. Tandem Process Iminium-Metal-Catalyzed and Enamine Reaction



only starting material 9a was recovered, even after 5 days, indicating that only the cyclic substrates can react under these reaction conditions.<sup>15</sup>

Given the known reactivity of enol lactones,<sup>16</sup> and having determined that the cyclic intermediate was required for the Michael addition, we became interested in performing iminium activation of  $\alpha,\beta$ -unsaturated aldehydes using diarylprolinol ethers.<sup>17</sup> Following the reaction outlined in Scheme 3, lactone 3 would react under iminium catalysis to give the aldehyde 11, followed by opening with a water molecule catalyzed by platinum to give intermediate 12. Finally, aldehyde 12 would cyclize via enamine chemistry with the prolinol ether catalyst, and dehydration of the obtained aldol would give the final compound 14.

With this premise in mind, we started the reaction with crotonaldehyde 13a, lactone 3, the silylprolinol ether 15 (20 mol %)<sup>18</sup> and 1 mol % of platinum catalyst 5c (eq 1, Scheme 4). Gratifyingly, the reaction gave the desired acid product as a mixture of

Scheme 4. Reaction of Lactone 3 with Different  $\alpha,\beta$ -Unsaturated Aldehydes 13

diastereoisomers (4:1) with a moderate enantiomeric ratio (*er* = 85:15) and good yield. The relative configuration was confirmed by NOESY experiments (see the Supporting Information). This reaction allows the synthesis of these chiral acids via an iminium ion/platinum/enamine ion catalysis cascade.

To obtain the absolute configuration by chemical correlation, we repeated the reaction but treated the crude mixture with N<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-TMS (eq 2, Scheme 4). Thus, acid **14** was converted into diester **16a** in a one-pot manner in good yield (eq 2, Scheme 4). Aldehydes **13b** (R = Ph) and **13c** (R = 2-furyl) underwent the same reaction to give diesters **16b** and **16c** with moderate yields and moderate to good enantiomeric ratios. The absolute configuration of compounds **16b**<sup>16</sup> and **16c**<sup>19</sup> was obtained by correlation with known compounds in the literature, obtaining similar optical rotations and indicating *R* configuration for the chiral center.

In conclusion, we have found that the use of catalytic amounts of platinum complexes (1 mol %) is compatible with different organocatalysts (DABCO or the Jørgensen–Hayashi catalyst),<sup>16</sup> allowing the functionalization of various acyclic malonates and allowing the synthesis of lactones with a quaternary center at C-3 and substitution at C-5 in a facile manner.

## EXPERIMENTAL SECTION

**General Methods.** NMR spectra were acquired on a 300 MHz spectrometer, running at 300 and 75 MHz for <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C, respectively. Chemical shifts ( $\delta$ ) are reported in ppm relative to residual solvent signals (CDCl<sub>3</sub>, 7.26 ppm for <sup>1</sup>H NMR, CDCl<sub>3</sub>, 77.0 ppm for <sup>13</sup>C NMR). <sup>13</sup>C NMR spectra were acquired on a broad band decoupled mode. Analytical thin-layer chromatography (TLC) was performed using precoated aluminum-backed plates and visualized by ultraviolet irradiation or KMnO<sub>4</sub> dip. Purification of reaction products was carried out by flash chromatography (FC) using silica gel. Melting points were measured using an open capillary tubes and are uncorrected. The optical

rotations were measured at room temperature (20–23 °C) using a polarimeter (concentration in g/100 mL). Alkenes **6a–j**, esters **1a,b**, catalyst **5c**, and aldehydes **13** were purchased from commercial available sources. Platinum complexes were synthesized according to the procedures described in the literature.<sup>8</sup> The *ee*'s were determined by HPLC employing chiral HPLC columns.

**Diethyl 2-(But-3-ynyl)malonate (1c).** Under an argon inert atmosphere, NaH (5.5 mmol, 1.1 equiv) was added portionwise at 0 °C to a solution of the corresponding malonate (5.0 mmol) in anhydrous THF (10 mL). The mixture was allowed to warm to room temperature and the corresponding propargyl bromide was added (5.5 mmol, 1.1 equiv). After the completion of the reaction (which is followed by TLC), the reaction was quenched with water and extracted with EtOAc (3 × 15 mL). The organic phase was dried with anhydrous MgSO<sub>4</sub> and concentrated under reduced pressure. The product was directly obtained as colorless oil (40% yield) and purified using flash column chromatography, elution with EtOAc/hexane (1:3): <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  4.19 (q, *J* = 7.5 Hz, 4H), 3.54 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 2.28 (td, *J* = 7.1, 2.6 Hz, 2H), 2.10 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 1.99 (t, *J* = 2.6 Hz, 1H), 1.26 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  168.9 (C), 82.4 (C), 70.0 (CH), 61.4 (CH<sub>2</sub>), 50.5 (CH), 27.3 (CH<sub>2</sub>), 16.3 (CH<sub>3</sub>), 14.0 (CH<sub>3</sub>); (MS-ESI<sup>+</sup>) [*M*]<sup>+</sup> calcd for C<sub>11</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub> 213.1126, found 213.1124.

**Procedure for the Monohydrolysis of the Substituted Malonates 2a and 2c.** To a solution of substrate (2.2 mmol) in methanol (**2a**) or ethanol (**2c**) (5 mL) was added NaOH (2.4 mmol, 1.1 equiv). The mixture was stirred at room temperature for 18 h. Then, 10 mL of aqueous saturated sodium bicarbonate were added, and the mixture was extracted with EtOAc (3 × 10 mL). The aqueous phase was acidified to pH = 1 with concentrated HCl and extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. The organic phase was dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated under reduced pressure, obtaining pure acid compounds.

**2-(Methoxycarbonyl)pent-4-ynoic Acid (2a).** The product was directly obtained following the standard procedure from commercial available **1a** as white solid (91% yield) without further purification: mp = 94.9–95.3 °C; <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.82 (bs, 1H), 3.74

(s, 3H), 3.59 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 2.74 (dd,  $J = 7.4, 1.6$  Hz, 2H), 1.99 (t,  $J = 2.5$  Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  172.8 (C), 168.2 (C), 79.5 (C), 70.8 (CH), 53.1 ( $\text{CH}_2$ ), 50.8 (CH), 18.4 ( $\text{CH}_2$ ); (electrospray)  $[\text{M} + \text{Na}]^+$  calcd for  $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4\text{Na}$  179.0322, found 179.0314.

**2-(Ethoxycarbonyl)hex-5-ynoic Acid (2c).** The product was directly obtained following the standard procedure starting from 1c as colorless oil (87% yield) without further purification:  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.93 (bs, 1H), 4.25 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 3.65 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 2.34 (td,  $J = 6.8, 2.5$  Hz, 2H), 2.15 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 2.04 (t,  $J = 2.6$  Hz, 1H), 1.31 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  174.4 (C), 168.8 (C), 82.1 (C), 70.0 (CH), 61.9 ( $\text{CH}_2$ ), 50.3 (CH), 27.3 ( $\text{CH}_2$ ), 16.3 ( $\text{CH}_2$ ), 13.9 ( $\text{CH}_3$ ); (MS-ESI $^+$ )  $[\text{M} + \text{Na}]^+$  calcd for  $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_4\text{Na}$  207.0627, found 207.0627.

**Procedure for the Synthesis of Acid 2b by Transesterification.** To a solution of compound 2a (2.2 mmol) in ethanol (5 mL) was added NaOH (2.4 mmol, 1.1 equiv). The mixture was stirred at room temperature for 18 h. Then, 10 mL of aqueous saturated sodium bicarbonate were added, and the mixture was extracted with EtOAc (3  $\times$  10 mL). The aqueous phase was acidified to pH = 1 with concentrated HCl and extracted with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . The organic phase was dried over  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtered, and concentrated under reduced pressure, obtaining pure the acid compound 2b.

**2-(Ethoxycarbonyl)pent-4-ynoic Acid (2b).** The product was directly obtained following the procedure as a colorless oil (83% yield) without further purification:  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  11.26 (bs, 1H), 4.18 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 3.56 (t,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 2.72 (ddd,  $J = 7.6, 2.5, 1.0$  Hz, 2H), 1.99 (t,  $J = 2.6$  Hz, 1H), 1.23 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  173.1 (C), 167.8 (C), 79.6 (C), 70.7 (CH), 62.2 ( $\text{CH}_2$ ), 51.0 (CH), 18.3 ( $\text{CH}_2$ ), 13.9 ( $\text{CH}_3$ ); (MS-ESI $^+$ )  $[\text{M} + \text{H}]^+$  calcd for  $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{O}_4$  171.0657, found 171.0656.

**General Procedure for Addition Reaction (Tables 1 and 2, Scheme 2).** To a solution of the corresponding acid 2a–c (0.3 mmol) in acetone (0.3 mL) were added the platinum complex 5c (0.003 mmol, 1 mol %), DABCO (0.06 mmol, 20 mol %), the corresponding  $\alpha,\beta$ -unsaturated compound 6a–j (0.3 mmol, 1.5 equiv), and 50  $\mu\text{L}$  of water. After completion of the reaction (which is followed by TLC), the mixture was concentrated to give a crude, which was purified using flash column chromatography. Elution with EtOAc/hexane (1:3) afforded the pure compounds.

**Methyl 5-Methylene-2-oxo-3-(2-(phenylsulfonyl)ethyl)tetrahydrofuran-3-carboxylate (4a).** The product was directly obtained following the standard procedure as a white solid (69% yield): mp = 105.2–105.9  $^\circ\text{C}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.93–7.89 (m, 2H), 7.71–7.66 (m, 1H), 7.62–7.56 (m, 2H), 4.84 (dt,  $J = 2.9, 2.0$  Hz, 1H), 4.42 (dt,  $J = 3.2, 1.6$  Hz, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.42 (ddd,  $J = 13.9, 10.3, 6.3$  Hz, 1H), 3.30 (dt,  $J = 16.6, 1.8$  Hz, 1H), 3.19 (ddd,  $J = 13.9, 10.4, 6.1$  Hz, 1H), 2.82 (dt,  $J = 16.6, 2.0$  Hz, 1H), 2.33 (ddd,  $J = 17.7, 14.0, 6.0$  Hz, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  171.4 (C), 168.6 (C), 151.6 (C), 138.4 (C), 134.1 (CH), 129.5 (CH), 128.1 (CH), 90.8 ( $\text{CH}_2$ ), 53.7 ( $\text{CH}_2$ ), 53.4 (C), 51.6 ( $\text{CH}_2$ ), 36.6 ( $\text{CH}_2$ ), 27.1 ( $\text{CH}_2$ ); (MS-ESI $^+$ )  $[\text{M} + \text{Na}]^+$  calcd for  $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{O}_6\text{Na}$  347.0565, found 347.0565.

**Ethyl 5-Methylene-2-oxo-3-(2-(phenylsulfonyl)ethyl)tetrahydrofuran-3-carboxylate (4b).** The product was directly obtained following the standard procedure as white solid (46% yield): mp = 101.4–102.2  $^\circ\text{C}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.84 (d,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 7.62 (t,  $J = 7.4$  Hz, 1H), 7.52 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H), 4.76 (dt,  $J = 2.9, 1.9$  Hz, 1H), 4.35 (dt,  $J = 2.9, 1.5$  Hz, 1H), 4.13 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 3.37 (ddd,  $J = 13.9, 10.4, 6.2$  Hz, 1H), 3.22 (dt,  $J = 16.5, 1.6$  Hz, 1H), 3.13 (ddd,  $J = 13.9, 10.5, 6.1$  Hz, 1H), 2.75 (dt,  $J = 16.5, 1.9$  Hz, 1H), 2.25 (ddd,  $J = 17.4, 14.0, 6.0$  Hz, 2H), 1.17 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  171.4 (C), 168.1 (C), 151.6 (C), 138.6 (C), 134.1 (CH), 129.5 (CH), 128.1 (CH), 90.6 ( $\text{CH}_2$ ), 63.0 ( $\text{CH}_2$ ), 53.4 (C), 51.7 ( $\text{CH}_2$ ), 36.7 ( $\text{CH}_2$ ), 27.1 ( $\text{CH}_2$ ), 13.9 ( $\text{CH}_3$ ); (MS-ESI $^+$ )  $[\text{M} + \text{H}]^+$  calcd for  $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{O}_6$  339.0896; found 339.0902.

**Ethyl 6-Methylene-2-oxo-3-(2-(phenylsulfonyl)ethyl)tetrahydro-2H-pyran-3-carboxylate (4c).** The product was directly obtained following the standard procedure as a colorless oil (22% yield):  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.83 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 7.61 (t,  $J = 7.4$  Hz, 1H), 7.51 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 4.64 (s, 1H), 4.29 (s, 1H), 4.13 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 3.43 (ddd,  $J = 13.7, 9.1, 7.1$  Hz, 1H), 3.08 (ddd,  $J = 13.7, 10.9, 6.4$  Hz, 1H), 2.56–2.46 (m, 2H), 2.30–2.16 (m, 2H), 1.69 (ddd,  $J = 13.6, 9.7, 7.3$  Hz, 2H), 1.17 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  169.4 (C), 166.6 (C), 153.4 (C), 138.7 (C), 134.0 (CH), 129.4 (CH), 128.1 (CH), 96.0 ( $\text{CH}_2$ ), 62.8 ( $\text{CH}_2$ ), 53.1 (C), 52.0 ( $\text{CH}_2$ ), 28.7 ( $\text{CH}_2$ ), 28.1 ( $\text{CH}_2$ ), 24.0 ( $\text{CH}_2$ ), 14.0 ( $\text{CH}_3$ ); (MS-ESI $^+$ )  $[\text{M} + \text{H}]^+$  calcd for  $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{O}_6\text{S}$  353.1053, found 353.1054.

**Methyl 3-(2-Cyanoethyl)-5-methylene-2-oxotetrahydrofuran-3-carboxylate (4d).** The product was directly obtained following the standard procedure as yellow oil (70% yield):  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.80 (s, 1H), 4.40 (s, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.31 (d,  $J = 16.6$  Hz, 1H), 2.86 (d,  $J = 16.6$  Hz, 1H), 2.66–2.45 (m, 2H), 2.34–2.32 (m, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  171.3 (C), 168.5 (C), 151.6 (C), 118.4 (C), 90.8 ( $\text{CH}_2$ ), 53.8 (C), 53.7 ( $\text{CH}_2$ ), 36.3 ( $\text{CH}_2$ ), 29.8 ( $\text{CH}_2$ ), 13.1 ( $\text{CH}_3$ ); (MS-ESI $^+$ )  $[\text{M} + \text{Na}]^+$  calcd for  $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{NO}_4\text{Na}$  232.0580, found 232.0574.

**Methyl 5-Methylene-2-oxo-3-(3-oxobutyl)tetrahydrofuran-3-carboxylate (4e).** The product was directly obtained following the standard procedure as a yellow oil (71% yield):  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.75 (s, 1H), 4.33 (s, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.26 (dt,  $J = 16.5, 1.5$  Hz, 1H), 2.74 (dt,  $J = 16.5, 1.5$  Hz, 1H), 2.70–2.43 (m, 2H), 2.16 (t,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 2.09 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  206.5 (C), 172.1 (C), 169.4 (C), 152.2 (C), 90.0 ( $\text{CH}_2$ ), 54.0 (C), 53.3 ( $\text{CH}_2$ ), 38.4 ( $\text{CH}_2$ ), 36.6 ( $\text{CH}_2$ ), 29.9 ( $\text{CH}_2$ ), 27.9 ( $\text{CH}_2$ ); (MS-ESI $^+$ )  $[\text{M} + \text{Na}]^+$  calcd for  $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_5\text{Na}$  249.0733, found 249.0741.

**Methyl 3-(3-Ethoxy-3-oxopropyl)-5-methylene-2-oxotetrahydrofuran-3-carboxylate (4f).** The product was directly obtained following the standard procedure as a colorless oil (66% yield):  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.84 (s, 1H), 4.43 (s, 1H), 4.16 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.38 (d,  $J = 16.5$  Hz, 1H), 2.86 (d,  $J = 16.5$  Hz, 1H), 2.61–2.50 (m, 1H), 2.46–2.24 (m, 3H), 1.28 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  172.0 (C), 171.9 (C), 169.2 (C), 152.2 (C), 90.0 ( $\text{CH}_2$ ), 60.8 ( $\text{CH}_2$ ), 54.2 (C), 53.4 ( $\text{CH}_2$ ), 36.0 ( $\text{CH}_2$ ), 29.5 ( $\text{CH}_2$ ), 29.2 ( $\text{CH}_2$ ), 14.1 ( $\text{CH}_3$ ); (MS-ESI $^+$ )  $[\text{M} + \text{Na}]^+$  calcd for  $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_6\text{Na}$  279.0839; found 279.0837.

**Diethyl 2-(1-(3-(Methoxycarbonyl)-5-methylene-2-oxotetrahydrofuran-3-yl)ethyl)malonate (4g/4g').** The product was directly obtained following the standard procedure as a colorless oil (53% yield). Major isomer:  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.80–4.77 (m, 1H), 4.40–4.38 (m, 1H), 4.25–4.12 (m, 4H), 3.78 (s, 3H), 3.57 (d,  $J = 5.7$  Hz, 1H), 3.44–3.31 (m, 2H), 3.02 (dt,  $J = 17.0, 2.1$  Hz, 1H), 1.30–1.23 (m, 6H), 1.10 (d,  $J = 7.0$  Hz, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  171.5 (C), 168.6 (C), 168.4 (C), 168.1 (C), 152.9 (C), 89.6 ( $\text{CH}_2$ ), 62.0 ( $\text{CH}_2$ ), 61.7 ( $\text{CH}_2$ ), 59.4 (C), 53.7 ( $\text{CH}_2$ ), 53.4 (CH), 36.3 (CH), 31.8 ( $\text{CH}_2$ ), 14.2 ( $\text{CH}_3$ ), 14.1 ( $\text{CH}_3$ ), 13.1 ( $\text{CH}_3$ ). Minor isomer:  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.80–4.77 (m, 1H), 4.40–4.38 (m, 1H), 4.25–4.12 (m, 4H), 3.79 (s, 3H), 3.55 (d,  $J = 5.7$  Hz, 1H), 3.44–3.31 (m, 2H), 3.00 (dt,  $J = 16.8, 2.3$  Hz, 1H), 1.30–1.23 (m, 6H), 1.10 (d,  $J = 7.0$  Hz, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  171.0 (C), 168.5 (C), 168.4 (C), 168.2 (C), 152.8 (C), 89.6 ( $\text{CH}_2$ ), 62.1 ( $\text{CH}_2$ ), 61.8 ( $\text{CH}_2$ ), 59.7 (C), 53.9 ( $\text{CH}_2$ ), 53.1 (CH), 36.1 (CH), 32.0 ( $\text{CH}_2$ ), 14.0 ( $\text{CH}_3$ ), 13.9 ( $\text{CH}_3$ ), 13.8 ( $\text{CH}_3$ ); (MS-ESI $^+$ )  $[\text{M} + \text{Na}]^+$  calcd for  $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{O}_8\text{Na}$  343.1393, found 343.1390.

**Methyl 5-Methylene-3-(1-nitrobutan-2-yl)-2-oxo-tetrahydrofuran-3-carboxylate (4h/4h').** The product was directly obtained following the standard procedure as a white solid (30% yield), mp = 114.9–116.1  $^\circ\text{C}$ . Major isomer:  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.80–4.77 (m, 1H), 4.63 (dd,  $J = 14.0, 4.2$  Hz, 1H), 4.43 (dd,  $J = 14.0, 6.4$  Hz, 1H), 4.38–4.34 (m, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.25 (dt,  $J = 17.0, 2.0$  Hz, 1H), 3.00–2.90 (m, 1H),



2.90 (dt,  $J = 17.0, 2.0$  Hz, 1H), 1.66 (ddq,  $J = 14.7, 7.4, 3.5$  Hz, 1H), 1.46–1.27 (m, 1H), 0.95 (t,  $J = 7.4$  Hz, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  170.9 (C), 168.9 (C), 151.6 (C), 90.4 ( $\text{CH}_2$ ), 76.0 ( $\text{CH}_2$ ), 57.7 (C), 53.7 ( $\text{CH}_2$ ), 41.9 (CH), 34.6 ( $\text{CH}_2$ ), 22.2 ( $\text{CH}_2$ ), 11.4 ( $\text{CH}_3$ ). Minor isomer:  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.80–4.68 (m, 2H), 4.48–4.35 (m, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.39 (dt,  $J = 16.8, 1.7$  Hz, 1H), 3.00–2.87 (m, 1H), 2.79 (dt,  $J = 16.8, 1.8$  Hz, 1H), 1.46–1.27 (m, 2H), 0.97 (t,  $J = 7.6$  Hz, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  170.9 (C), 168.9 (C), 151.9 (C), 90.2 ( $\text{CH}_2$ ), 75.3 ( $\text{CH}_2$ ), 58.2 (C), 53.7 ( $\text{CH}_2$ ), 42.4 (CH), 32.7 ( $\text{CH}_2$ ), 22.7 ( $\text{CH}_2$ ), 11.9 ( $\text{CH}_3$ ); (MS-ESI $^+$ ) [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$  calcd for  $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{NO}_6$  258.0972, found 258.0976.

**Methyl 5-Methylene-3-(2-nitro-1-phenylethyl)-2-oxotetrahydrofuran-3-carboxylate (4f).** The product was directly obtained following the standard procedure as a white solid (72% yield). The minor diastereoisomer could not be isolated: mp = 114.9–116.1  $^\circ\text{C}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.35–7.31 (m, 3H), 7.26–7.22 (m, 2H), 5.25 (dd,  $J = 13.7, 10.9$  Hz, 1H), 4.98 (dd,  $J = 13.7, 3.5$  Hz, 1H), 4.58 (q,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 4.27 (dd,  $J = 10.8, 3.5$  Hz, 1H), 4.10 (td,  $J = 3.2, 1.6$  Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.09 (dt,  $J = 16.9, 1.6$  Hz, 1H), 2.86 (dt,  $J = 16.9, 2.1$  Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  171.5 (C), 169.2 (C), 151.5 (C), 133.8 (C), 129.5 (CH), 129.2 (CH), 129.0 (CH), 90.1 ( $\text{CH}_2$ ), 76.6 ( $\text{CH}_2$ ), 57.8 (C), 54.0 ( $\text{CH}_2$ ), 46.6 (CH), 35.6 ( $\text{CH}_2$ ); (MS-ESI $^+$ ) [ $\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$  calcd for  $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NO}_6\text{Na}$  328.0797, found 328.0784.

**Methyl 4-Oxo-2-(2-(phenylsulfonyl)ethyl)pentanoate (8a).** To a solution of acid **2a** (0.3 mmol) in acetone (0.3 mL) were added platinum complex **5c** (0.003 mmol, 5 mol %), DABCO (0.06 mmol, 20 mol %), the phenyl vinyl sulfone (0.3 mmol, 1.5 equiv), and 250  $\mu\text{L}$  of water. The reaction was stirred at room temperature during 72 h. Then the mixture was concentrated and purified using flash column chromatography. Elution with EtOAc/hexane (1:1) gave the pure compound **8a** as a yellow oil (57% yield):  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.83 (dt,  $J = 7.1, 1.7$  Hz, 2H), 7.60 (tt,  $J = 7.4, 1.7$  Hz, 1H), 7.51 (tt,  $J = 7.4, 1.4$  Hz, 2H), 3.81 (t,  $J = 7.0$  Hz, 1H), 3.57 (s, 3H), 3.16–2.99 (m, 2H), 2.91–2.77 (m, 2H), 2.52–2.41 (m, 1H), 2.06 (s, 3H), 1.96–1.79 (m, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (C), 174.0 (C), 138.8 (C), 133.9 (CH), 129.4 (CH), 128.0 (CH), 53.9 ( $\text{CH}_2$ ), 52.1 ( $\text{CH}_3$ ), 44.7 ( $\text{CH}_2$ ), 38.5 (CH), 29.9 ( $\text{CH}_3$ ), 24.4 ( $\text{CH}_2$ ); (electrospray $^+$ ) [ $\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$  calcd for  $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{SNa}$  321.0773, found 321.0755.

**2-(Methoxycarbonyl)-4-oxopentanoic Acid (9a).** To a solution of acid **2a** (0.3 mmol) in acetone (0.3 mL) were added platinum complex **5c** (0.015 mmol, 5 mol %) and 250  $\mu\text{L}$  of water. The mixture was stirred at room temperature for 72 h. Then 3 mL of aqueous saturated sodium bicarbonate was added, and the mixture was extracted with EtOAc (3  $\times$  3 mL). The aqueous phase was acidified to pH = 1 with concentrated HCl and then extracted with EtOAc (3  $\times$  3 mL). The organic solvent was dried over  $\text{MgSO}_4$ , filtered, and concentrated under reduced pressure, obtaining pure acid compound **9a**. The product was directly obtained following the procedure as yellow oil (94% yield) without further purification:  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.31 (bs, 1H), 3.81 (t,  $J = 7.0$  Hz, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.03 (d,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 2.15 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (C), 172.5 (C), 169.4 (C), 53.0 ( $\text{CH}_2$ ), 46.5 (CH), 41.9 ( $\text{CH}_2$ ), 29.6 ( $\text{CH}_3$ ); (MS-ESI $^+$ ) [ $\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$  calcd for  $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_5\text{Na}$  197.0420, found 197.0422.

**Methyl 5-Methylene-2-oxotetrahydrofuran-3-carboxylate (3).** To a solution of acid **2a** (0.3 mmol) in acetone (0.3 mL) were added platinum complex **5c** (0.003 mmol, 1 mol %) and 250  $\mu\text{L}$  of water. The mixture was stirred at room temperature during 6 h. Then the reaction mixture was extracted with EtOAc (3  $\times$  3 mL); the organic solvent was dried over  $\text{MgSO}_4$ , filtered and concentrated under reduced pressure, obtaining pure compound **3**. The product was directly obtained as a yellow oil (yield 91%) without further purification:  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.75 (q,  $J = 2.3$  Hz, 1H), 4.35 (dt,  $J = 2.7, 1.8$  Hz, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.71 (dd,  $J = 10.4, 7.6$  Hz, 1H), 3.24 (ddt,  $J = 16.7, 7.6, 2.1$  Hz, 1H), 3.02

(ddt,  $J = 16.7, 10.4, 1.8$  Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  169.7 (C), 167.4 (C), 153.2 (C), 89.8 ( $\text{CH}_2$ ), 53.4 (CH), 46.2 ( $\text{CH}_3$ ), 29.3 ( $\text{CH}_2$ ); (MS-TOF MS EI $^+$ ) [ $\text{M}$ ] $^+$  calcd for  $\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_4$  156.0423, found 156.0425.

**Procedure for the Synthesis of the Cyclic Acid 14 (Scheme 4).** (1*S*,2*R*)-3-Formyl-1-(methoxycarbonyl)-2,4-dimethylcyclopent-3-enecarboxylic Acid (**14**). To a solution of lactone **3** (0.3 mmol) in acetone (0.3 mL) were added DABCO (0.06 mmol, 20 mol %),  $\text{PtCl}_2(\text{DMSO})_2$  (0.003 mmol, 1 mol %), **15** (0.06 mmol, 20 mol %), the corresponding  $\alpha,\beta$ -unsaturated aldehyde (0.45 mmol, 1.5 equiv), and 50  $\mu\text{L}$  of water. The reaction was stirred at room temperature for 24–72 h. Then 3 mL of aqueous saturated sodium bicarbonate was added, and the mixture was extracted with EtOAc (3  $\times$  3 mL). The aqueous phase was acidified to pH = 1 with concentrated HCl and then extracted with EtOAc (3  $\times$  3 mL). The organic solvent was dried over  $\text{MgSO}_4$ , filtered, and concentrated under reduced pressure, obtaining pure acid compounds **14a–c**. The product **14a** was directly obtained following the procedure as yellow oil (yield 85%) without further purification. The relative configuration was confirmed by NOESY experiment (see SI-38, Supporting Information). Major diastereoisomer:  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.87 (s, 1H), 8.06 (bs, 1H), 3.82 (q,  $J = 7.4$  Hz, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.55 (dq,  $J = 19.4, 1.4$  Hz, 1H), 2.94 (d,  $J = 19.4$  Hz, 1H), 2.12 (d,  $J = 1.4$  Hz, 3H), 1.05 (d,  $J = 7.1$  Hz, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  187.4 (CH), 176.0 (C), 169.8 (C), 157.9 (C), 139.8 (C), 62.1 (C), 52.8 ( $\text{CH}_2$ ), 45.5 ( $\text{CH}_2$ ), 43.6 (CH), 14.6 ( $\text{CH}_3$ ), 14.0 ( $\text{CH}_3$ ). Minor diastereoisomer:  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.87 (s, 1H), 8.06 (bs, 1H), 3.89–3.42 (m, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.51–3.42 (m, 1H), 2.90 (d,  $J = 19.4$  Hz, 1H), 2.08 (s, 3H), 1.11 (d,  $J = 7.1$  Hz, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  187.4 (CH), 176.0 (C), 169.8 (C), 157.9 (C), 139.8 (C), 62.1 (C), 53.0 ( $\text{CH}_2$ ), 45.3 ( $\text{CH}_2$ ), 43.8 (CH), 14.6 ( $\text{CH}_3$ ), 14.0 ( $\text{CH}_3$ ); (MS-ESI $^+$ ) [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$  calcd for  $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{O}_5$  227.0914, found 227.0920.

**General Procedure for the Synthesis of Diesters 16a–c (Scheme 4).** To a solution of lactone **3** (0.3 mmol) in acetone (0.3 mL) were added DABCO (0.06 mmol, 20 mol %),  $\text{PtCl}_2(\text{DMSO})_2$  (0.003 mmol, 1 mol %), **15** (0.06 mmol, 20 mol %), the corresponding  $\alpha,\beta$ -unsaturated aldehyde (0.45 mmol, 1.5 equiv), and 50  $\mu\text{L}$  of water. Then, 3 mL of aqueous saturated sodium bicarbonate was added, and the mixture was extracted with EtOAc (3  $\times$  3 mL). The aqueous phase was acidified to pH = 1 with concentrated HCl and then extracted with EtOAc (3  $\times$  3 mL). The organic solvent was dried over  $\text{MgSO}_4$ , filtered, and concentrated under reduced pressure, obtaining pure acid compounds **14a–c**. To a solution of these acid compounds **14a–c** (0.2 mmol) in MeOH (0.2 mL) was added dropwise (diazomethyl)trimethylsilane (0.6 mmol, 3 equiv), and the mixture was further stirred for 4 h in darkness. After completion of the reaction (which is followed by TLC), 50  $\mu\text{L}$  of glacial acetic was added, and stirring was continued for 30 min. Then the reaction mixture was extracted with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3  $\times$  3 mL), and the organic layer was washed three times with 3 mL of aqueous saturated sodium bicarbonate, dried over  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtered, and concentrated under reduced pressure, obtaining the crude compounds which were purified using flash column chromatography. Elution with EtOAc/hexane (1:3) affords the pure compounds.

(*R*)-Dimethyl 3-Formyl-2,4-dimethylcyclopent-3-ene-1,1-dicarboxylate (**16a**). The product was directly obtained following the standard procedure as yellow oil (yield 78%); [ $\alpha$ ] $^{25}_{\text{D}} = -108.9$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ );  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.84 (s, 1H), 3.83 (q,  $J = 7.1$  Hz, 1H), 3.68 (s, 3H), 3.66 (s, 3H), 3.48 (d,  $J = 19.3$  Hz, 1H), 2.81 (d,  $J = 19.3$  Hz, 1H), 2.05 (s, 3H), 0.95 (d,  $J = 7.1$  Hz, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  187.0 (CH), 171.8 (C), 170.0 (C), 156.9 (C), 140.0 (C), 62.2 (C), 53.0 ( $\text{CH}_2$ ), 52.6 ( $\text{CH}_3$ ), 45.6 ( $\text{CH}_2$ ), 43.6 (CH), 14.7 ( $\text{CH}_3$ ), 14.0 ( $\text{CH}_3$ ); (MS-ESI $^+$ ) [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$  calcd for  $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{O}_5$  241.1070, found 241.1072. The enantiomeric excess was determined by HPLC using a Chiralcel IC column [hexane/*i*-PrOH (90:10)]; flow rate 1.0 mL/min;  $t_{\text{major}} = 39.2$  min,  $t_{\text{minor}} = 34.7$  min (er = 85:15).

(R)-Dimethyl 3-Formyl-4-methyl-2-phenylcyclopent-3-ene-1,1-dicarboxylate (**16b**)<sup>16</sup>. The product was directly obtained following the standard procedure as a yellow oil (40% yield):  $[\alpha]_D^{25} = -157.4$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ) (lit.  $[\alpha]_D^{25} = -293.6$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ));  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.81 (s, 1H), 7.15–7.10 (m, 3H), 7.02–6.99 (m, 2H), 5.03 (s, 1H), 3.72 (d,  $J = 19.1$  Hz, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.08 (s, 3H), 2.88 (d,  $J = 19.6$  Hz, 1H), 2.20 (s, 3H);  $^{13}\text{C NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  185.9 (CH), 171.0 (C), 168.4 (C), 157.2 (C), 137.5 (C), 137.3 (C), 127.8 (CH), 127.4 (CH), 126.7 (CH), 62.9 (C), 54.7 (CH), 52.5 (CH<sub>3</sub>), 51.5 (CH<sub>3</sub>), 45.9 (CH<sub>2</sub>), 13.5 (CH<sub>3</sub>). The enantiomeric excess was determined by HPLC using a Chiralcel IC column [hexane/*i*-PrOH (90:10)]; flow rate 1.0 mL/min;  $t_{\text{major}} = 18.8$  min,  $t_{\text{minor}} = 34.2$  min (er = 92:8).

(R)-Dimethyl 3-Formyl-2-(furan-2-yl)-4-methylcyclopent-3-ene-1,1-dicarboxylate (**16c**)<sup>16</sup>. The product was directly obtained following the standard procedure as a yellow oil (35% yield):  $[\alpha]_D^{25} = -207.6$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ) (lit. enantiomer: *ent*-**16c**:<sup>16</sup>  $[\alpha]_D^{25} = +220.8$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ));  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.88 (s, 1H), 7.16 (dd,  $J = 1.8, 0.8$  Hz, 1H), 6.18 (dd,  $J = 3.2, 1.9$  Hz, 1H), 6.02 (dd,  $J = 3.2, 0.3$  Hz, 1H), 5.10 (s, 1H), 3.74–3.70 (m, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.38 (s, 3H), 2.92 (d,  $J = 19.4$  Hz, 1H), 2.22 (q,  $J = 1.0$  Hz, 3H). The enantiomeric excess was determined by HPLC using a Chiralcel IC column [hexane/*i*-PrOH (90:10)]; flow rate 1.0 mL/min;  $t_{\text{major}} = 18.8$  min,  $t_{\text{minor}} = 34.2$  min (er = 82:18).

## ■ ASSOCIATED CONTENT

**S Supporting Information.** HPLC chromatograms and  $^1\text{H}$  NMR and  $^{13}\text{C}$  NMR spectra for all of the compounds. This material is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org>.

## ■ AUTHOR INFORMATION

### Corresponding Author

\*E-mail: jose.aleman@uam.es.

## ■ ACKNOWLEDGMENT

We acknowledge a grant from the Spanish MEC (SAF2009-09431). J.A. and V.S. thank the Spanish MICINN for a Ramón y Cajal contract and a predoctoral fellowship, respectively.

## ■ REFERENCES

- (1) (a) Gallen, M. J.; Williams, C. M. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 4697. (b) Gallen, M. J.; Williams, C. M. *Org. Lett.* **2008**, 10, 713. (c) Maciel, M. A. M.; Martins, J. R.; Pinto, A. C.; Kaiser, C. R.; Esteves-Souza, A.; Echevarria, A. J. *Braz. Chem. Soc.* **2007**, 18, 103. (d) Bandara-Herath, H. M. T.; Herath, W. H. M. W.; Carvalho, P.; Khan, S. I.; Tekwani, B. L.; Duke, S. O.; Tomaso-Peterson, M.; Nanayakkara, N. P. D. *J. Nat. Prod.* **2009**, 72, 2091. (e) Druckova, A.; Marnett, L. J. *Chem. Res. Toxicol.* **2006**, 19, 1330. (f) Coll, J.; Tandrón, Y. *Phytochemistry* **2004**, 65, 387. (g) Castronovo, F.; Clericuzio, M.; Toma, L.; Vidari, G. *Tetrahedron* **2001**, 57, 2791.
- (2) (a) Edmondson, S. D.; Berger, R.; Chang, L.; Colandrea, V. J.; Hale, J. J.; Harper, B.; Kar, N. F. L.; Li, B.; Moriello, G. J.; Moyer, C. R. *PTC Int. Appl. WO* 2011025690, 2011. (b) Spencer, R. W.; Tam, T. F.; Thomas, E.; Robinson, V. J.; Krantz, A. J. *Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 5589. See, e.g.: (c) Woods, P. A.; Morrill, L. C.; Lebi, T.; Slawin, A. M. Z.; Bragg, R. A.; Smith, A. D. *Org. Lett.* **2010**, 12, 2660. (d) Curry, L.; Hallside, M. S.; Powell, L. H.; Sprague, S. J.; Burton, J. W. *Tetrahedron* **2009**, 65, 10882.
- (3) For selected reviews on organocatalysis, see: (a) Dalko, P. I.; Moisan, L. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, 43, 5138. (b) *Asymmetric Organocatalysis*;

Berkessel, A.; Groger, H., Eds.; Wiley-VCH: Weinheim, 2005. (c) Hayashi, Y. *Synth. Org. Chem. Jpn.* **2005**, 63, 464. (d) *Enantioselective Organocatalysis*; Dalko, P. I., Ed.; Wiley-VCH: Weinheim, 2007. (e) Bertelsen, S.; Jorgensen, K. A. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, 38, 2178.

(4) For selected reviews on metal catalysis, see: (a) Beller, M.; Bolm, C. *Transition Metals for Organic Synthesis: Building Blocks and Fine Chemicals*, 2nd ed.; Wiley-VCH: Weinheim, 2004; Vols. 1 and 2. (b) Crabtree, R. H. *The Organometallic Chemistry of the Transition Metals*, 5th ed.; John Wiley & Sons: New York, 2009.

(5) For recent reviews in the combination of organo and metal catalysis, see: (a) Shao, Z.; Zhang, H. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, 38, 2745. (b) Zhong, C.; Shi, X. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 2999. For dual catalysis, see: (c) Klusmann, M. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, 48, 7124. (d) de Armas, P.; Tejedor, D.; Garcia-Tellado, F. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2010**, 49, 1013. (e) Rüping, M.; Königs, R. M.; Atodiresi, I. *Chem.—Eur. J.* **2010**, 16, 9350.

(6) (a) Yang, T.; Ferrali, A.; Campbell, L.; Dixon, D. J. *Chem. Commun.* **2008**, 2923. (b) Jensen, K. L.; Franke, P. T.; Arróniz, C.; Kobbelgaard; Jorgensen, K. A. *Chem.—Eur. J.* **2010**, 16, 1750. (c) Zhao, G.-L.; Ullah, F.; Deiana, L.; Lin, S.; Zhang, Q.; Sun, J.; Ibrahim, L.; Dziedzic, P.; Córdova, A. *Chem.—Eur. J.* **2010**, 16, 1585.

(7) See, e.g.: (a) Poulsen, T. B.; Bernardi, L.; Alemán, J.; Overgaard, J.; Jorgensen, K. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 441. (b) Konishi, H.; Lam, T. Y.; Malenich, J. P.; Rawal, V. H. *Org. Lett.* **2010**, 12, 2028. (c) Jiang, H.; Paixao, M. W.; Monge, D.; Jorgensen, K. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 2775.

(8) Bordwell, F. G. *Acc. Chem. Res.* **1988**, 21 (456), 463 and references cited therein.

(9) (a) Alemán, J.; del Solar, V.; Navarro-Ranninger, C. *Chem. Commun.* **2010**, 46, 454. (b) Alemán, J.; del Solar, V.; Cubo, L.; Gómez, A.; Navarro-Ranninger, C. *Dalton Trans.* **2010**, 39, 10601.

(10) For recent examples, see, e.g.: (a) García Mancheño, O.; Tangen, P.; Rohmann, R.; Fröhlich, R.; Alemán, J. *Chem.—Eur. J.* **2011**, 17, 984. (b) Alemán, J.; Núñez, A.; Marzo, L.; Marcos, V.; Alvarado, C.; García Ruano, J. L. *Chem.—Eur. J.* **2010**, 16, 9453. (c) Alemán, J.; Marcos, V.; Marzo, L.; García Ruano, J. L. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 4482.

(11) The presence of water is completely necessary to obtain reactivity toward the corresponding aqua complex (see ref 9).

(12) All these reactions were performed in the presence of 50  $\mu\text{L}$  of  $\text{H}_2\text{O}$ . Dried solvents inhibit the cyclization reaction.

(13) Different trials with cinchona and thiourea–cinchona alkaloid catalysts have been attempted, obtaining in all the cases moderate enantioselectivities.

(14) Lower catalytic loading of complex **5c** (1–2 mol%) did not afford the final compound **8a**, and only the intermediate lactone **4a** was observed. Lactone **3** exclusively in the presence of water did not react after 48 h, indicating that the platinum complex is necessary to obtain the opened products.

(15) DABCO and compound acid **9a** gave the corresponding salt, avoiding the deprotonation at the  $\alpha$ -position to the acid moiety.

(16) For recent examples, see: (a) Muratore, M. E.; Holloway, C. A.; Pilling, A. W.; Storer, R. L.; Trevitt, G.; Dixon, D. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 10796. (b) Singh, P. R.; Surpur, M. P.; Patil, S. B. *Tetrahedron Lett.* **2008**, 49, 3335. (c) Cam, K. R.; Woo, J. C. S.; Lee, S.; Tillyer, R. D. *Org. Lett.* **2004**, 6, 79.

(17) For a general review of the use of silyldiarylpriolol ethers as catalysts see: (a) Mielgo, A.; Palomo, C. *Chem. Asian J.* **2008**, 3, 922. (b) Xu, L.-W.; Li, L.; Shi, Z.-H. *Adv. Synth. Catal.* **2010**, 352, 243.

(18) We have tried lower catalyst loadings (5–10 mol%); however, only lower yields were obtained.

(19) Yu, C.; Zhang, Y.; Zhang, S.; He, J.; Wang, W. *Tetrahedron Lett.* **2010**, 51, 1742.

---

**A.3. References**

- 178** (a) Al-Bahlani, S.; Fraser, M.; Wong, A. Y.; Sayan, B. S.; Bergeron, R.; Melino, G. and Tsang, B. K. *Oncogene* **2011**, *30*, 4219-4230. (b) Florea, A. M. and Büsselberg, D. *Neurotoxicology* **2009**, *30*, 803-810.
- 179** (a) Chappell, N. P.; Teng, P. N.; Hood, B. L.; Wang, G.; Darcy, K. M.; Hamilton, C. A.; Maxwell, G. L. and Conrads, T. P. *J. Proteome Res.* **2012**, *11*, 4605-4614. (b) Sancho-Martínez, S. M.; Prieto-García, L.; Prieto, M.; López-Novoa, J. M. and López-Hernández, F. *J. Pharmacol. Ther.* **2012**, *136*, 35-55.
- 180** (a) Ohashi, K.; Kajiya, K.; Inaba, S.; Hasegawa, T.; Seko, Y.; Furuchi, T. and Naganuma, A. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2003**, *310*, 148-152. (b) Hagrman, D.; Goodisman, J.; Dabrowiak, J. C. and Souid, A. K. *Drug Metab. Dispos.* **2003**, *31*, 916-923. (c) Kotoh, S.; Naito, S.; Sakamoto, N.; Goto, K. and Kumazawa, J. *J. Urol.* **1994**, *152*, 1267-1270.
- 181** Kim, W. K. and Kwon, Y. E. *Cancer Chemoth. Pharm.* **2007**, *60*, 237-243.
- 182** (a) see reference 133. (b) Yoshida, M.; Khokhar, A. R. and Siddik, Z. H. *Cancer Res.* **1994**, *54*, 4691-4697. (c) see reference 70.
- 183** (a) Harper, B. W. *et col. Chemistry* **2010**, *16*, 7064-7077. (b) Galanski, M. *Recent Pat. Anticancer Drug Discov.* **2006**, *1*, 285-295.
- 184** (a) Decatris, M. P.; Sundar, S. and O'Byrne, K. J. *Cancer Treat. Rev.* **2004**, *30*, 53-81. (b) see reference 87.
- 185** (a) Sternberg, C. N. *et col. J. Clin. Oncol.* **2009**, *27*, 5431-5438. (b) Choy, H.; Park, C. and Yao, M. *Clin. Cancer Res.* **2008**, *14*, 1633-1638. (c) Sternberg, C. N. *et col. Oncology* **2005**, *68*, 2-9.

